Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. v. Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, F. Tangl-Budapest, A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, R. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, H. Molisch-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Münzer-Prag, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, F. Roehmann-Breslau, P. Rona-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, A. J. J. Vandevelde-Gent, O. Warburg-Berlin, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Neunundsiebzigster Band.

1917.



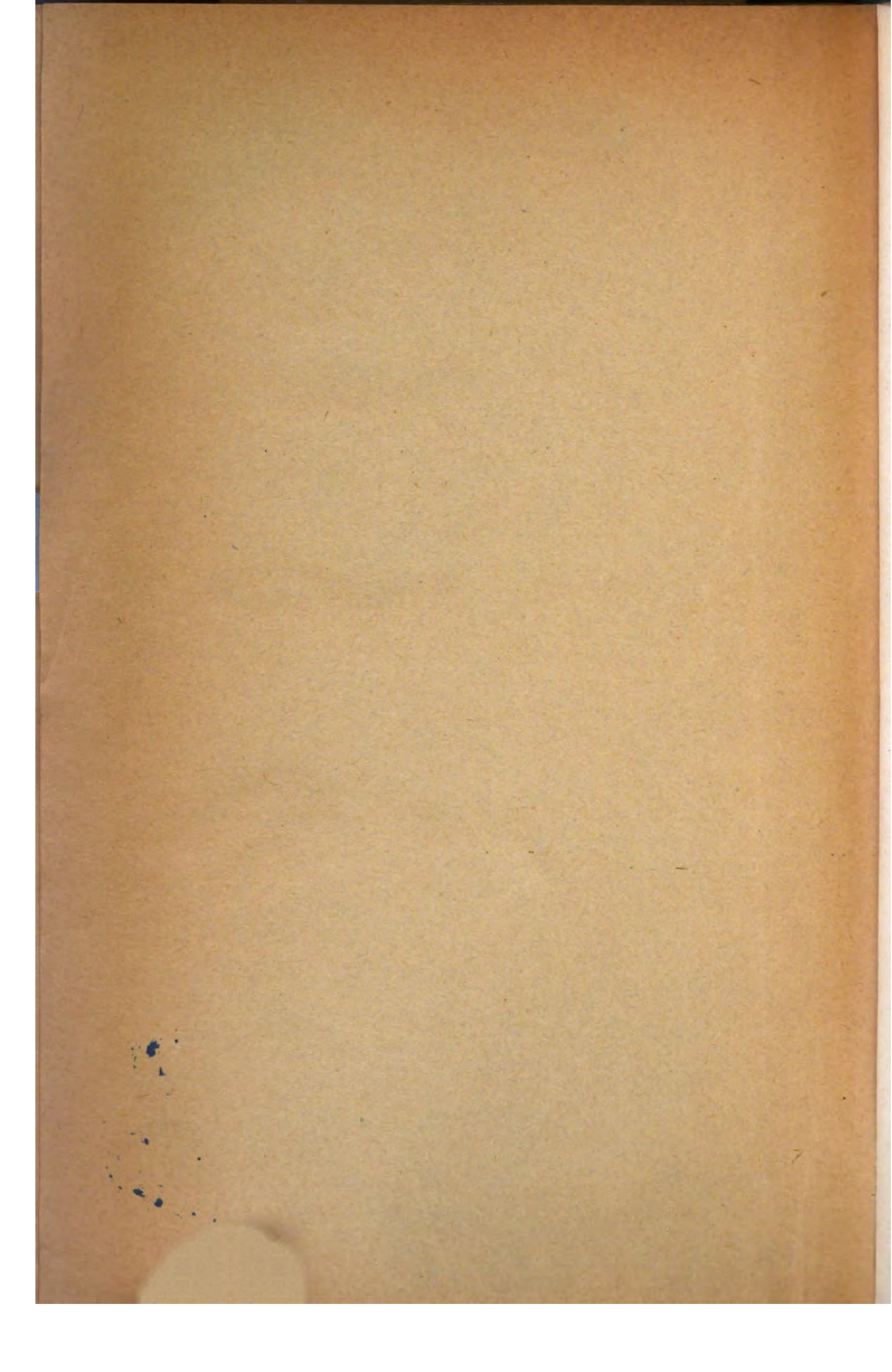
Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1917.








F.G.KOSTER·BOEKBINDER



Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. v. Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, F. Tangl-Budapest, A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, R. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, H. Molisch-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Münzer-Prag, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, F. Roehmann-Breslau, P. Rona-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, A. J. J. Vandevelde-Gent, O. Warburg-Berlin, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Neunundsiebzigster Band.





Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1917.



Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Michaelis, Leonor. Die Methode der elektrometrischen Titration und ihre Anwendung auf den Magensaft 1

Jacoby, Martin. Über Fermentbildung 35

Strauß, H. Angeborenes Fehlen beider Nebennieren und Morbus Addisoni mit kritischen Betrachtungen zur Biochemie des Adrenalsystems 51

Salkowski, E. Zur Kenntnis der Bindungen des Schwefels im Harn 68

— Zur Kenntnis des Anästhesins und der Isäthionyl-p-aminobenzoesäure 81

— Über essigsaures Wismut 96

Boas, I. Blutnachweis in Mageninhalt, Faeces und Urin 105

Wacker, Leonhard. Die Kohlensäureabgabe des absterbenden Muskels als Ursache der Lösung der Totenstarre 118

Friedberger, E., und G. Joachimoglu. Über die Abhängigkeit der keimtötenden und entwicklungshemmenden Wirkung von der Valenz 135

Ehrlich, Felix. Über die Vegetation von Hefen und Schimmelpilzen auf heterocyklischen Stickstoffverbindungen und Alkaloiden 152

Feigl, Joh., und H. Luce. Neue Untersuchungen über akute gelbe Leberatrophie. I. Über den Reststickstoff des Blutes und seine Komponenten. Weitere Beiträge zur vergleichenden Pathologie des Aminosäurespiegels im Blute 162

Brahn, B., und H. Hirschfeld. Über den Katalasegehalt des Blutes bei den sogenannten Pseudoanämien 202

Feigl, Joh., und H. Luce. Neue Untersuchungen über akute gelbe Leberatrophie. II. Harnanalyse und Bilanzversuche . 207

Loewy, A., und C. Brahm. Säurevergiftung und Luftverdünnung 224

Ehrlich, Felix. Über den Nachweis von Tyrosol und Tryptophol in verschiedenen Gärprodukten 232

Fuld, E. Über Blutnachweis, insbesondere mittels Malachitgrüns, und eine neue Probe mit Rhodamin 241

Morgenroth, J., und J. Tugendreich. Über die spezifische Desinfektionswirkung der Chinaalkaloide 257

Seite

Wohlgemuth, J. Über die Zusammensetzung des Blutes und über das Verhalten des Blutdruckes im Wüstenklima . . . 290

Oppenheimer, Carl. Über die Zulässigkeit der Calorie als physiologische Maßeinheit 302

Heide, R. von der. Analyse der Haferpflanze, insbesondere der Strohteile 331

Unna, P. G. Die Rolle des Sauerstoffs bei chemischen Einwirkungen auf das tierische Gewebe. Mit 1 Tafel 355

Neuberg, Carl, und Eduard Färber. Über die Wirkungsweise der Carboxylase 376

— und Erwin Schwenk. Über Indoxylglucuronsäure 383

Brahm, C., R. von der Heide, Marie Steuber, und N. Zuntz (Referent). Untersuchungen über den Einfluß mechanischer und chemischer Einwirkungen auf den Nährwert von Futterstoffen 389

DIE ARBEITEN DIESES HEFTES BILDEN DEN 1. TEIL DES FESTBANDES DER BIOCHEMISCHEN ZEITSCHRIFT,

HERRN GEH. MED.-RAT

PROFESSOR DR. JOHANNES ORTH

ZUR FEIER SEINES 70. GEBURTSTAGES

AM 14. JANUAR 1917

GEWIDMET.



Die Methode der elektrometrischen Titration und ihre Anwendung auf den Magensaft.

Von

Leonor Michaelis.

(Aus einem Reservelazarett.)

(Eingegangen am 1. September 1916.)

Mit 30 Figuren im Text.

Die vorliegende Arbeit wurde mit Hilfe von Mitteln durchgeführt, die die Farbstoffabrik Leopold Cassella & Co. in Frankfurt a. M. mir auf Veranlassung Sr. Exzellenz, des Herrn Wirkl. Geheimrats Prof. Dr. Paul Ehrlich (†) zur Verfügung gestellt hat. Es ist mir ein Bedürfnis, dieser Firma für diese Unterstützung, die sie auch in der Kriegszeit fortgesetzt hat, auch an dieser Stelle meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Es ist für die Physiologie und Klinik gleich wichtig, eine klare Vorstellung davon zu haben, in welcher Menge und Form die Säuren im Magensaft enthalten sind. Soweit diese Frage mit rein chemischen Methoden lösbar ist, kann die Forschung als abgeschlossen gelten. Aber zur vollkommenen Aufklärung versagt die rein chemische Forschung, wo es sich um Ionengleichgewichte handelt, und hier ist die physikalische Chemie unerläßlich. Es sind noch nicht viele Versuche gemacht worden, diese auf das Studium der Magensäuren anzuwenden, und die bisher vorliegenden Versuche von Paul Fraenkel[1]), Tangl[2]), Allaria[3]), L. Michaelis[4]) und H. Davidsohn[5]), sowie zuletzt von Johanne Christiansen[6]), erstrecken sich alle nur auf die

---

[1]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **1**, 431, 1905.

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. **115**, 64, 1906.

[3]) Jahrb. f. Kinderheilk. **67** (Erg.-Heft), 123, 1908.

[4]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **8**, 2, 1910.

[5]) Zeitschr. f. Kinderheilk. **4**, 208, 1912.

[6]) Diese Zeitschr. **46**, 24, 50, 71, 82, 1912.

Messung der Wasserstoffionen-Konzentration im Magensaft. Schon hierbei zeigte sich, daß zwischen den hergebrachten Methoden, die „freie Salzsäure“ in einem Magensaft nach Probefrühstück zu bestimmen, und dieser neueren Methode beträchtliche Unterschiede im Ergebnis bestehen können. Die neue Methode gibt einen merklich kleineren Wert für die „freie Salzsäure“ als die meisten der älteren, die in einer Titration gegen einen angeblich hierfür geeigneten Indicator bestehen, sei es nun Dimethylamidoazobenzol oder Methylorange oder Tropaeolin 00 oder Kongopapier. Nur die von Mintz 1889 empfohlene Titration bis zum Aufhören der Günzburgschen Reaktion gibt nach der Arbeit von Johanne Christiansen einigermaßen eine Übereinstimmung mit der elektrometrischen Bestimmung der H-Ionen.

Aber die Messung der Wasserstoffionenkonzentration kann bei geeigneter Anwendung wie überhaupt so auch für den Magensaft noch viel mehr leisten. Die Methode ist nämlich einer Erweiterung fähig, die bisher in der Physiologie und Klinik kaum, in der reinen Chemie bei weitem noch nicht genügend angewendet worden ist: es ist die Methode der elektrometrischen Titration. Eine Zusammenstellung rein chemischer Anwendungsgebiete findet sich bei Joël H. Hildebrandt[1]). Die einzige bisher vorliegende biologische Anwendung stammt von Spiro und Koppel[2]). Die mathematischen Grundlagen der Methode sind in erschöpfender Weise von den beiden letztgenannten Verfassern entwickelt worden. Wir werden uns hier mehr an die praktische Seite der Methode halten. Da die Methode kaum bekannt ist, soll erst ihr Prinzip erläutert werden.

Die Methode der elektrometrischen Titration.

Die Methode beruht darauf, daß man der zu untersuchenden Säurelösung stufenweise titrierte Lauge zusetzt, Schritt für Schritt die durch den Laugenzusatz hervorgerufene Wasserstoffionenkonzentration mißt, und den Wasserstoffexponenten graphisch als Funktion der zugesetzten Laugenmenge darstellt.

[1]) Americ. Journ. of Chem. 1913.

[2]) Diese Zeitschr. **65**, 409, 1914.

Aus dem Gang dieser Funktion kann man Schlüsse auf die Menge und Natur der in der Lösung vorhandenen Säuren (und Basen) ziehen. Um dies zu verstehen, bedarf es einer genauen Erörterung der Methode, wobei ich die allgemeine Theorie und Praxis der Messung der Wasserstoffzahl als bekannt voraussetze[1]).

A. Technik der Methode.

Die technische Ausführung der Methode erfordert von der sonstigen Technik der elektrometrischen Messung, die ich vor kurzem eingehend beschrieben habe[2]), eine einzige Abweichung, die die Form der Gaselektrode betrifft. Diese muß so eingerichtet sein, daß man nach stufenweisem Zusatz von Lauge an der gleichen Flüssigkeitsprobe immer wieder die elektrometrische Messung vornehmen kann. Es sind schon mehrere Elektrodenformen hierfür beschrieben worden, man wird sie je nach der Art des zu untersuchenden Materials zu gestalten haben. Mir hat sich folgende sehr einfache Form bewährt. Eine 1,8 cm breite und 2,8 cm hohe Glasglocke ist nach oben in ein dünnes Glasrohr ausgezogen; nahe dem oberen Ende desselben ist ein durchbohrter Glashahn eingeschaltet. Dicht oberhalb der Glocke

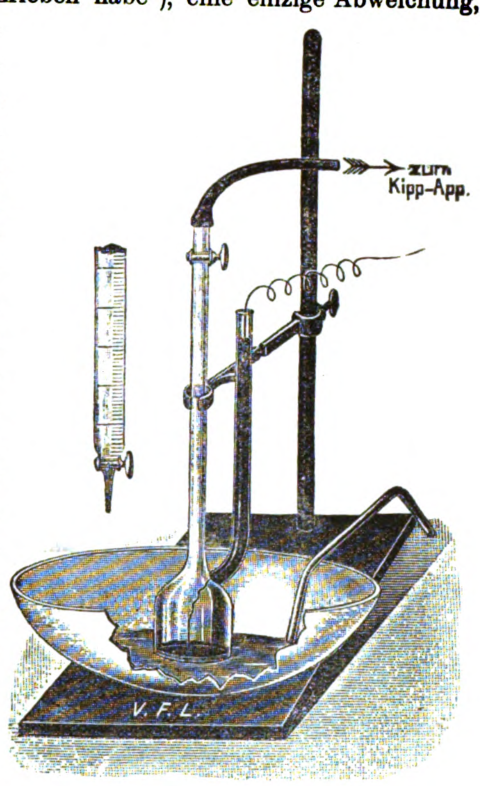


Fig. 1. Tauchelektrode für elektrometrische Titration.

---

1) S. hierüber L. Michaelis, Die Wasserstoffionenkonzentration. Berlin 1914.

2) l. c.

ist durch die Wand dieses Glasrohres ein Platindraht eingeschmolzen, der über die untere Öffnung der Glasglocke etwas herüberragt. Das andere, das Glasrohr nach außen durchbohrende Ende des Drahtes ist von einem angeschmolzenen Glasstutzen umgeben, in den Quecksilber eingefüllt ist. Der zuleitende Kupferdraht wird in dieses eingetaucht, um den Kontakt herzustellen. Diese „Taucheelektrode“ wird in lotrechter Stellung an einem Stativ derart befestigt, daß der Glockenrand in die zu untersuchende, in einer Porzellanschale befindliche Flüssigkeit etwas eintaucht. Oberhalb des Flüssigkeitsspiegels befindet sich daneben die zum Titrieren bestimmte mit $^{n}/_{10}$-Kalilauge gefüllte Glashahnbürette, und ferner taucht in die Flüssigkeit noch das eine Ende eines doppelt gebogenen Glasrohres hinein, welches mit einer 2 bis 3%igen, mit Kaliumchlorid gesättigten Agargallerte gefüllt ist. Das andere Ende des Glasrohres taucht in die Wanne mit gesättigter KCl-Lösung, in die andererseits die zur Ableitung dienende Kalomel-Elektrode eintaucht, in der Form der von mir beschriebenen „gesättigten Kalomelelektrode“.

Der Platindraht wird vor der Benutzung auf folgende Weise vorbereitet: Zunächst schneidet man seine Länge derart zurecht, daß er nicht mehr als $^{1}/_{2}$ cm aus der Glasglocke herausragt. Dann glühe man vorsichtig in einem kleinen Flämmchen die überragende kleine Spitze aus und gebe mit einer Pinzette dem ganzen Draht eine leicht schraubenförmige Krümmung, so daß er dadurch noch etwas verkürzt wird und das Ende ungefähr in der Ebene der Glockenöffnung steht. Nun befestige man die Elektrode über einer mit der üblichen Platinlösung gefüllten Porzellanschale, sauge die Platinlösung so weit an, daß sie den ganzen Platindraht bedeckt, schließe den Glashahn und platiniere mit Hilfe einer zweiten plattenförmigen Platinelektrode, die man außen in die Platinlösung steckt, mit dem Strom eines ein- oder zweizelligen Akkumulators $^{1}/_{2}$ bis 1 Minute lang. Dann entferne man die Platinlösung und wasche durch wiederholtes Ansaugen und Entleeren von Wasser die Platinlösung aus. Nun folgt die „Reduktion“ der Elektrode in genau gleicher Weise wie die Platinierung, nur wendet man statt der Platinlösung verdünnte Schwefelsäure an. Zum Schluß wird diese wieder ausgewaschen, und die Elektrode ist gebrauchsfertig.

Die Messung geschieht in folgender Weise. In eine Porzellanschale wird eine bestimmte Menge, gewöhnlich 10 ccm, der zu untersuchenden Flüssigkeit eingegossen und die Tauchelektrode derart befestigt, daß der Rand der Glocke eben eintaucht. Nunmehr leitet man einen Strom von Wasserstoffgas von oben her durch die Glocke mit einer Geschwindigkeit, daß in der Sekunde aus der Glocke 1 bis 2 mal eine Wasserblase aufquillt. Man leite etwa $^1/_2$ bis 1 Liter Gas durch, dann drehe man den Glashahn zu. Bei richtiger Länge des Platindrahtes gelingt es leicht, die Gaszuleitung in einem Augenblick zu unterbrechen, wo die Spitze des Elektrodendrahtes gerade eben noch in die Flüssigkeit eintaucht. Während der H_2-Durchleitung soll der Draht abwechselnd eintauchen und nicht eintauchen, in dem Maße, wie sich die Glocke abwechselnd mit Gas füllt und ruckweise entleert. Hierdurch wird gleichzeitig das Abspülen an der Elektrodenspitze hängender Reste von Flüssigkeit anderer Zusammensetzung bewirkt. Dieses Spülen ist besonders nach jedesmaligem Laugenzusatz von Wichtigkeit. Die so bewirkte Spülung der Elektrode ist völlig ausreichend und zuverlässig. Die endgültige Einstellung der Elektrodenspitze soll derart sein, daß die Spitze die Flüssigkeit eben berührt. Je weniger die Spitze eintaucht, um so schneller stellt sich das Potential ein. Das früher von mir beschriebene Prinzip des geringen Eintauchens, dessen Zweckmäßigkeit allseitig anerkannt worden ist, läßt sich mit dieser Elektrodenform in besonders schöner und gut regulierbarer Weise durchführen. Zum Schluß tauche man das mit der Agarlösung gefüllte oben beschriebene Glasrohr einerseits in die Flüssigkeit, andererseits in die Kaliumchloridwanne, und beginne mit der Messung des Potentials, bis dasselbe konstant geworden ist. Während dieser Zeit muß die Flüssigkeit mit der Elektrode *durchaus frei von jeder Erschütterung* stehen bleiben. Jede gröbere Erschütterung bewirkt einen vorübergehenden Abfall des Potentials, offenbar, weil die unter der Glocke stehende Flüssigkeit vorübergehend ihre Sättigung mit Wasserstoffgas verliert und sich dieser Verlust sofort auch auf die Platinspitze ausdehnt.

Ist das Potential konstant geworden, so lese man ab, hebe die Tauchelektrode aus der Flüssigkeit heraus, setze aus der

Bürette die gewünschte Laugenmenge zu, rühre um, tauche die Elektrode wieder ein, leite von neuem Wasserstoff durch usw.

Die Einstellung des Potentials geschieht sehr schnell und erfordert meist nur einige Minuten; sie geschieht in stark sauren Flüssigkeiten (wie im unveränderten Magensaft) meist noch schneller als in alkalischen Lösungen. Ist die Einstellung nach spätestens 15 Minuten praktisch noch nicht konstant, so ist die Platinierung verdorben. Zur guten Konservierung der Platinierung empfiehlt es sich, nach elektrometrischen Titrationen, die bis in das alkalische Gebiet gingen, die Elektrode zum Schluß mit verdünnter Salz- oder Essigsäure abzuwaschen, um Spuren von Calciumcarbonat und -phosphat, die sich an der Elektrode etwa gebildet haben, zu entfernen. Nach 1 bis 4 Wochen muß die Platinierung jedenfalls wiederholt werden, sobald nämlich die Einstellung eines konstanten Potentials sich zu verzögern beginnt.

B. Theorie der Methode.

Die Theorie der Methode soll hier mehr induktiv an Beispielen abgeleitet werden. Die mathematische Entwicklung der Theorie findet sich bei Spiro und Koppel.

Wir legen uns zunächst als erstes Beispiel die Frage vor: wie ändert sich die [H·], wenn man zu je 10 ccm 0,1 norm. Salzsäure stufenweise 0,1 norm. Kalilauge zusetzt? In der ursprünglichen Säurelösung ist, wenn wir vorläufig die Säure als total dissoziiert annehmen wollen, [H·] = 0,1 norm. Nach Zusatz von 1 ccm der Lauge befindet sich in der Lösung nur noch 0,09 norm. HCl und ebensoviel H·. Die [H·] ändert sich also nur um einen geringen Betrag (10 $^0/_0$), und so ändert sich zunächst auch mit weiterem Zusatz der Lauge die [H·] nur wenig, bis wir in die Nähe des Neutralpunktes kommen. Angenommen, wir stehen bei dem Zusatz von 9 ccm der Lauge, so ist die Lösung nur noch 0,01 norm. an HCl, oder genauer, wenn wir die durch den Laugenzusatz gleichzeitig bewirkte Verdünnung mit Wasser berücksichtigen, rund die Hälfte dieses Wertes, also 0,005 norm. oder $5 \cdot 10^{-3}$. Nach 10 ccm Laugenzusatz ist aber die Flüssigkeit neutral, d. h. [H·] = ungefähr 10^{-7}. Hier bewirkte also der Zusatz von 1 ccm Lauge den ungeheuren Sprung der [H·] um fast 4 Zehnerpotenzen. Stel-

len wir im rechtwinkligen Koordinatensystem die [H˙], oder besser noch p_H, als Funktion der zugesetzten Kubikzentimeter Lauge dar, so ergibt sich folgendes Bild:

Die Kurve erhebt sich sehr allmählich von der Horizontalen und springt dicht vor dem Neutralpunkt, d. h. bei der Ordinate 7,1, steil in die Höhe, verläuft, wo sie diese Ordinate schneidet, senkrecht und wird ganz allmählich wieder flacher. Sie erreicht schließlich asymptotisch den p_H, der der zur Titration benutzten Lauge entspricht.

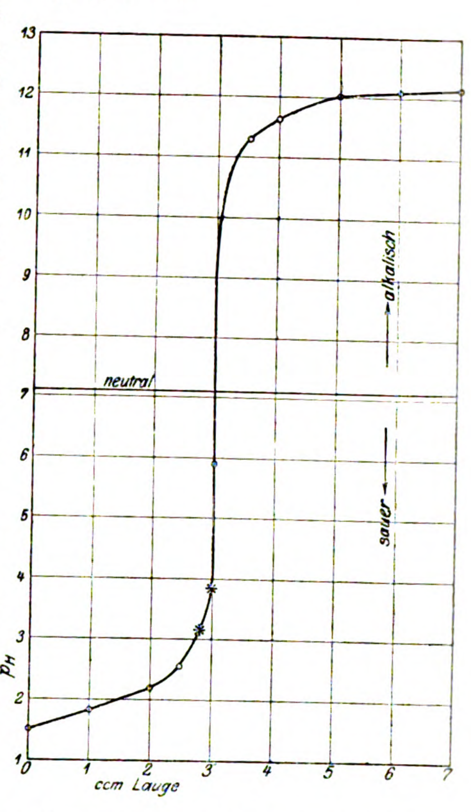


Diagramm 1. Titration von Salzsäure. 10 ccm 0,03 n. HCl werden mit den in der Abscisse angegebenen ccm 0,1 n. KOH versetzt. Die Ordinate gibt die zugehörigen p_H. Die Kreise sind gemessene, die Sterne zur Ergänzung dazu berechnete Punkte.

Als zweites Beispiel titrieren wir 10 ccm 0,1 norm. Essigsäure gegen 0,1 norm. Lauge. Die Kurve (Diagramm 2) unterscheidet sich von der vorigen dadurch, daß sie gleich mit einem viel größeren p_H beginnt, nach anfänglichem, nur sehr kurz dauerndem steilen Aufstieg sofort sehr flach und fast geradlinig wird, um im Neutralpunkt wieder in die Höhe zu springen.

Als drittes Beispiel titrieren wir ein Gemisch von HCl und Essigsäure gegen Lauge. Es seien in 10 ccm Lösung 3 ccm 0,1 norm. HCl und 3 ccm 0,1 norm. Essigsäure enthalten. Der Anfang der Kurve (Diagramm 3) ist wie bei der reinen Salzsäurelösung. Die punktierte Linie zeigt, wie die Kurve bei

Abwesenheit der Essigsäure weitergehen würde. Sobald die HCl abgesättigt ist, beginnt die Kurve nach oben abzubiegen, aber nach einem kurzen Sprung nach oben wird sie infolge der Anwesenheit der Essigsäure wieder flach und fast geradlinig; sobald die Essigsäure abgesättigt ist, wendet sie sich wiederum steil aufwärts und schreitet senkrecht durch den Neutralpunkt.

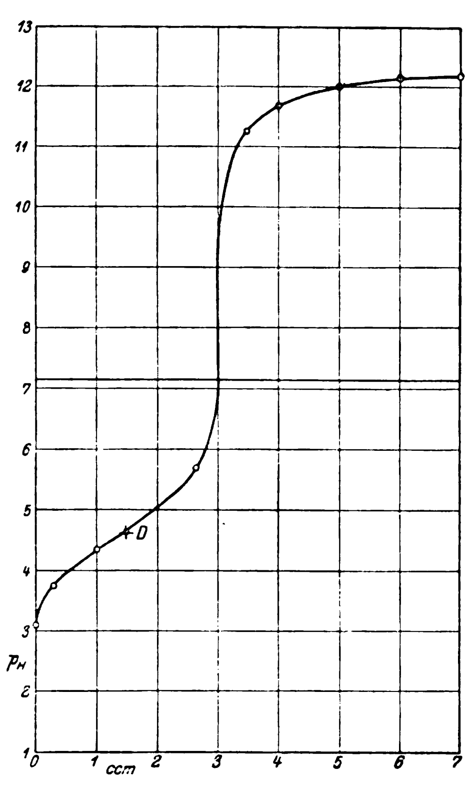


Diagramm 2. Titration von Essigsäure. 10 ccm 0,03 n. Essigsäure gegen 0,1 n. KOH titriert. Die Kreise sind durch Messung gewonnene Punkte. Bei *D* ist die Ordinate gleich dem Logarithmus der Dissoziationskonstanten der Essigsäure.

Die Wirkung der Essigsäure besteht also in einer Abflachung der Kurve für eine gewisse Strecke. Sie bewirkt das Auftreten zweier neuer Wendepunkte W_1 und W_2, zwischen denen die Kurve fast geradlinig verläuft. Eine gewisse Ordinate, die inmitten dieser geradlinigen Strecke liegt, stellt den Logarithmus der Dissoziationskonstante der Essigsäure dar (Figur 3, D; es ist $= 4{,}6$; $k_{\text{Essigsäure}} = 2.10^{-5} = 10^{-4,6}$).

Titrieren wir in einem vierten Beispiel (Diagr. 4) ein Gemisch von Salzsäure und Milchsäure bei gleichen Mengenverhältnissen wie im vorigen Beispiel, so ist das Bild ganz ähnlich, nur daß der erste Wendepunkt undeutlicher ist. Das liegt daran, daß die Milchsäure wegen ihrer höheren Dissoziationskonstante ($1{,}4 \cdot 10^{-4}$) ihren Einfluß auf die Kurve schon bei einem p_H bemerkbar macht, wo eine merkliche Aufbiegung der Salzsäurekurve

noch nicht begonnen hat. Bei der reinen HCl-Kurve kann man folgende Regel aufstellen: der Neigungswinkel der Kurve ändert sich zunächst sehr wenig. Sobald aber die

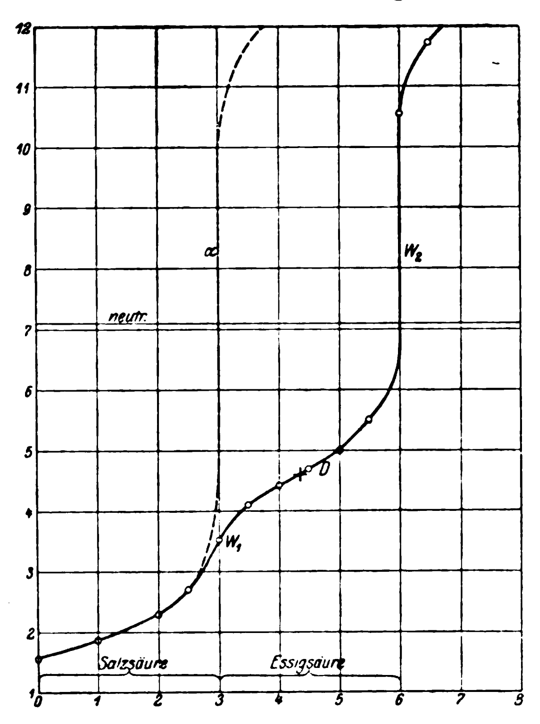


Diagramm 3. Titration von Salzsäure + Essigsäure. α Fortsetzung der Kurve bei Abwesenheit der Essigsäure, oder „Schlußordinate der Salzsäure".

Änderung des Winkels überhaupt bemerkbar wird, wird er schnell zunehmend steiler. Der Einfluß der Milchsäure besteht im wesentlichen darin, daß die Neigung der Kurve, obwohl sie schon merklich angefangen hat, steiler zu werden, weiterhin nicht noch steiler wird, sondern eine Strecke lang konstant bleibt.

Mischen wir in einem weiteren Beispiel HCl mit dem Hydrochlorid einer schwachen Base, so ergibt sich ein ganz ähnliches Bild (Diagr. 5). Titrieren wir eine Mischung von 3 ccm 0,1 norm. HCl, 3 ccm 0,1 mol. Glykokoll-Chlorhydrat und 4 ccm Wasser, so können wir das Glykokoll, solange die Lösung über-

haupt sauer reagiert, wie eine schwache Base betrachten. Die Kurve sieht fast ebenso aus wie die mit Milchsäure. Die Mitte des geradlinig verlaufenden Teils hat wieder eine enge Beziehung zur Dissoziationskonstanten des Glykokolls k_b (als Base); die entsprechende Ordinate ist nämlich $= \log \frac{k_w}{k_b}$, wo k_w die Dissoziationskonstante des Wassers ist. Jenseits des Neutralpunktes macht sich der Einfluß des Glykokolls zum zweitenmal bemerkbar, dieses Mal infolge seiner Eigenschaft als schwache Säure.

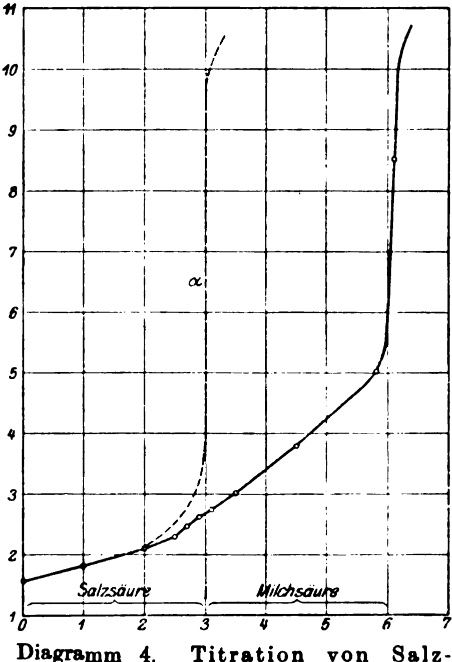


Diagramm 4. Titration von Salzsäure + Milchsäure. α Schlußordinate der Salzsäure.

Immer komplizierter werden die Verhältnisse, wenn neben der Salzsäure noch zwei (oder mehrere) schwächere Säuren in Lösung sind. Titrieren wir z. B. ein Gemisch von HCl, Milchsäure und Essigsäure, so erkennen wir sowohl die Wirkung der Milchsäure wie die der Essigsäure (Diagr. 6). Die Grenze zwischen den beiden schwachen Säuren wird sich um so deutlicher abheben, je verschiedener die beiden Dissoziationskonstanten sind. Verfolgen wir in Figur 6 die Kurve von Anfang an nach rechts, so zeigt die gestrichelte Kurve α an, wie der Fortgang wäre, wenn nur die HCl in Lösung wäre. In Wirklichkeit läuft die Kurve flacher. Die gestrichelte Kurve β zeigt den Fortgang, wenn außer HCl nur Milchsäure vorhanden wäre. In Wirklichkeit tritt eine nochmalige Abflachung infolge der Essigsäure ein. Erst nach ihrer Absättigung erfolgt der steile Aufstieg durch den Neutralpunkt.

Wäre nun z. B. noch eine Säure in Lösung, deren Stärke zwischen der der Milch- und Essigsäure läge, so könnte bei geeigneten Mengenverhältnissen ihre Wirkung sich z. B. einfach darin äußern, daß die Kurve entsprechend dem gestrichelten Stück γ abgeflacht würde. Von einer Analyse dieses Säuregemisches kann dann keine Rede mehr sein. Aber wir können aus solcher Kurve den Schluß ziehen, daß außer der HCl noch mehrere schwache Säuren von verschiedener, aber nicht sehr

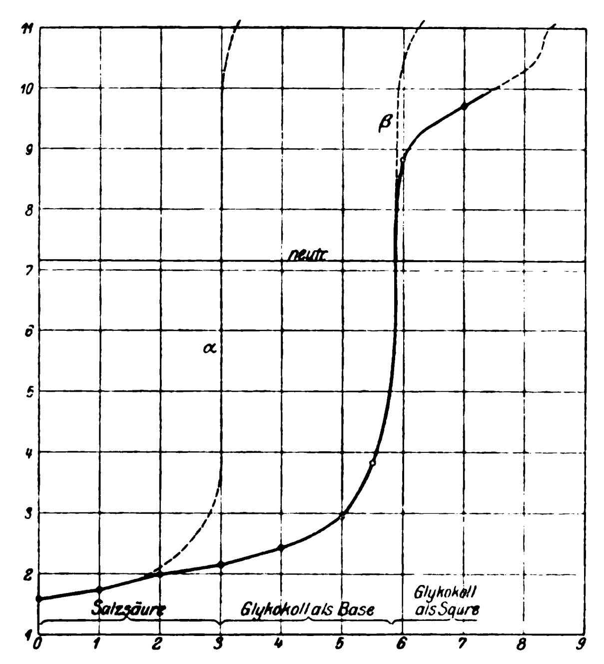


Diagramm 5. Titration von Salzsäure + Glykokoll-Chlorhydrat. α Schlußordinate der Salzsäure, β Schlußordinate des Glykokolls als Base.

weit auseinander liegender Dissoziationskonstante vorhanden sind. Dies ist gerade für den Magensaft von Bedeutung. Ist aber in einer Kurve ein geradliniges Stück erkennbar, das zwischen zwei deutlichen Aufbiegungen liegt, so können wir dieses zu folgenden Schlüssen benutzen:

Das Ende der vorangehenden, stärkeren Säure entspricht der ersten Aufbiegung, das Ende dieser Säure selbst oder auch der Anfang der nächstschwächeren Säure entspricht der zweiten

Aufbiegung. Wo die Aufbiegungen deutlich genug zu erkennen sind, können wir ohne große Berechnungen nach dem Augenmaß ziemlich genau sagen, wie die Kurve hier senkrecht durch den Neutralpunkt emporschießen würde, wenn die folgende Säure nicht vorhanden wäre. Die Entfernung zwischen den beiden, aus den beiden Aufbiegungen nach Augenmaß ergänzten

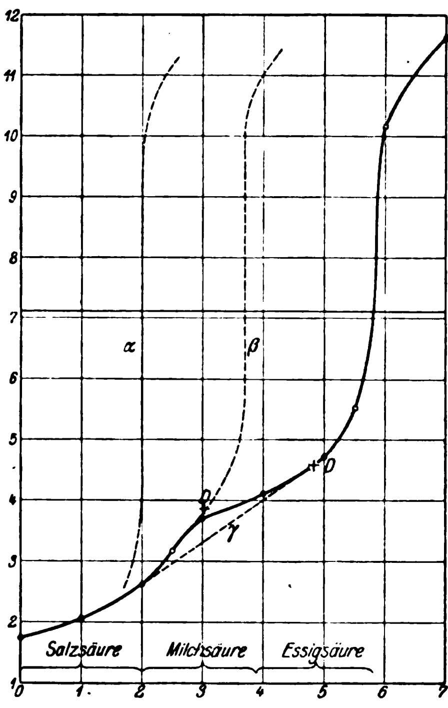


Diagramm 6. Titration von Salzsäure + Milchsäure + Essigsäure. α Schlußordinate der Salzsäure, β Schlußordinate der Milchsäure. *D, D* Dissoziationskonstanten (logarithmisch) der Milchsäure und der Essigsäure wie in Diagramm 2. Die gestrichelte Kurve γ gehört nicht dazu, vgl. darüber den Text.

Senkrechten gibt in Kubikzentimetern die äquivalente Menge der Lauge an, sie stellt also Anfang- und Endpunkt der partiellen Titrierung dieser einen Säure des Gemisches dar; und ungefähr in der Mitte des abgeflachten Stückes zwischen diesen beiden Stellen gibt die Ordinate die Dissoziationskonstante dieser Säure (logarithmisch) an.

Eine **mehrbasische Säure** macht sich durch mehrere Aufbiegungen bemerkbar. Titrieren wir z. B. 3 ccm 0,1 norm.

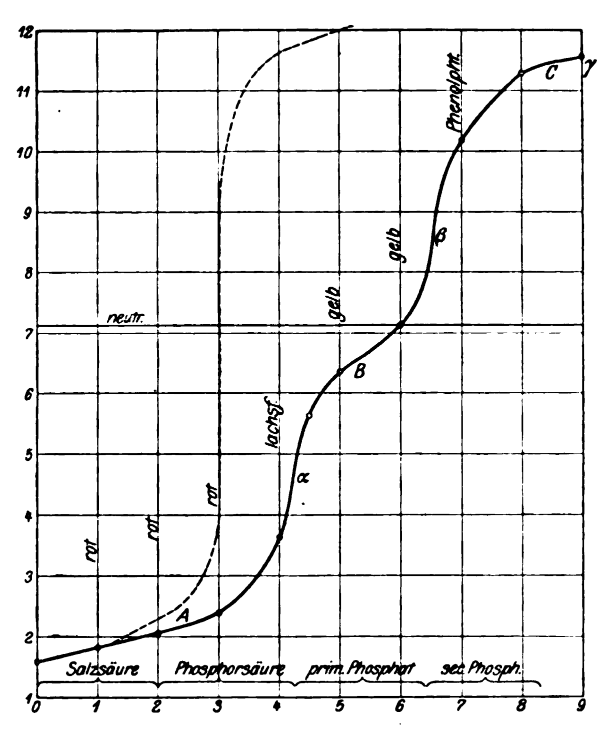


Diagramm 7. Titration von Salzsäure + Phosphorsäure. α Ende der freien Phosphorsäure, β Ende des primären Phosphats. Bei γ ist das tertiäre Phosphat noch nicht ganz zu Ende titriert. Die punktierte Linie „Schlußordinate" der Salzsäure. Der Lösung ist Dimethylamidoazobenzol + Phenolphthalein zugesetzt. Die Farbenangaben beziehen sich auf das erstere; „Phenolphth." bedeutet den eben beginnenden Phenolphthalein-Umschlag.

HCl + 2,2 ccm 0,1 mol. Phosphorsäure, so macht die Phosphorsäure sich zunächst durch die Abflachung A bemerkbar. Der Anstieg α entspricht der vollkommenen Bildung des primären Phosphats; sodann wird während der Abflachung B sekundäres Phosphat gebildet, das bei dem Aufstieg β beendet ist; sodann wird bei der Abflachung C tertiäres Phosphat gebildet, das zum Schluß bei dieser Versuchsbedingung wegen

der an sich schon zu großen Flachheit der Kurve die nicht mehr gut erkennbare Aufbiegung γ erzeugt.

Ein amphoterer Elektrolyt mit den beiden Dissoziationskonstanten k_a und k_b verhält sich genau wie eine zweibasische Säure mit den Dissoziationskonstanten k_a und $\frac{k_w}{k_b}$.

C. Anwendung auf den Magensaft.

Betrachten wir zunächst rein empirisch die nach diesem Verfahren gewonnenen Absättigungskurven annähernd normaler

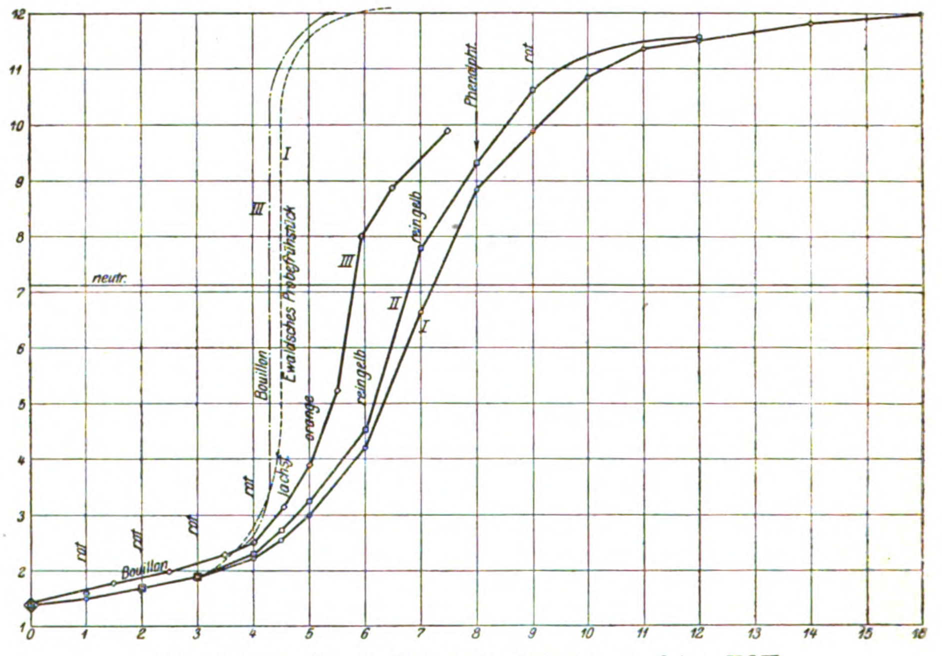


Diagramm 8. 10 ccm Magensaft, titriert gegen 0,1 n. KOH.

I Magensaft nach Ewaldschem Probefrühstück, nur filtriert.

II Derselbe Saft nach Entfernung der Phosphate.

III Magensaft desselben Falles nach einem Probefrühstück nur von dünner Fleischbrühe.

Die punktierten Kurven I und III sind die „Schlußordinaten" der freien Salzsäure für die Hauptkurve I bzw. III. Zusatz von Dimethylamidoazobenzol und Phenolphthalein. Die Farbenangaben beziehen sich nur auf Kurve I.

Magensäfte nach einem Ewaldschen Probefrühstück. Wir beginnen mit dem Magensaft Braun vom 20. VII. 16, einem etwas

hyperaciden Saft mit der Titrationsacidität 75 gegen Phenolphtalein (Diagramm 8, Kurve I). Die [H˙] dieses Saftes beträgt 0,0412 norm.; $p_H = 1{,}384$. Nehmen wir den Dissoziationsgrad der HCl zu rund 90% an[1]), so würde dieser Saft einer

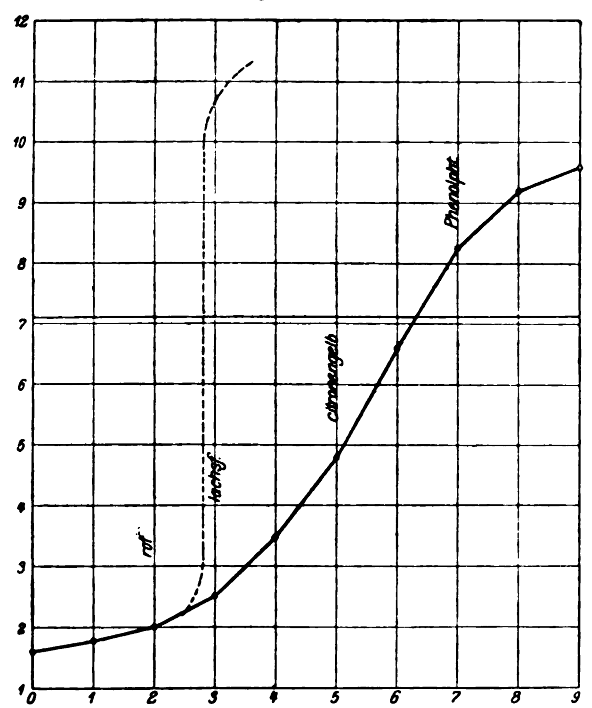


Diagramm 9. Magensaft nach Probefrühstück. Die gestrichelte Kurve Schlußordinate der freien Salzsäure. Farbenangaben wie Diagramm 7 und 8.

[1]) Den Dissoziationsgrad einer HCl, die außerdem noch NaCl enthält, können wir nach Arrhenius ungefähr so groß setzen wie in einer reinen HCl-Lösung von gleichem Cl-Gehalt. Wäre kein NaCl im Magensaft, so wäre der Dissoziationsgrad in unserem Magensaft 0,95 oder sogar noch etwas größer. Um zum Ausdruck zu bringen, daß der Dissoziationsgrad in dem NaCl-haltigen Magensaft etwas herabgedrückt ist, setzen wir ihn = 0,9. Der Fehler, den wir dabei begehen, kann nur wenige Prozente betragen, und es hieße die Fehlergrenzen der Methode unterschätzen, wenn man in Diskussion stellen wollte, ob nicht richtiger etwa 0,87 zu setzen sei. Der denkbar höchste Fehler dieser Schätzung wäre vielleicht 5—7% des Gesamtwertes, ein Fehler, der von gleicher Größenordnung ist wie der durchschnittlich zu erwartende Fehler der Gaskettenmethode.

0,045 norm. wäßrigen HCl-Lösung entsprechen. Nach Zusatz von 4,5 ccm 0,1 norm. Lauge müßte also die Kurve steil durch den Neutralpunkt laufen wie in Diagramm 8 die gestrichelte Kurve I. Statt dessen läuft die Kurve in Wirklichkeit flacher (die ausgezogene Kurve I) und zwar in sanfter S-förmiger

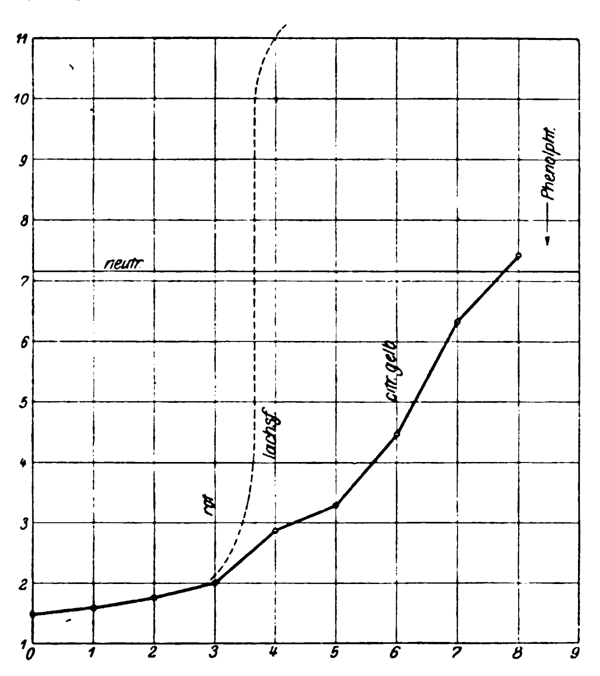


Diagramm 10. Anderer Magensaft nach Probefrühstück.

Krümmung durch den Neutralpunkt, und über diesen hinaus asymptotisch bis zu dem Eigenwert der Titrationslauge. Nach den oben entwickelten Grundsätzen können wir hieraus sofort schließen, daß eine große Menge verschiedener schwächerer Säuren oder Hydrochloride schwächerer Basen zugegen sein müssen, mit allen möglichen Abstufungen der Dissoziationskonstanten von annähernd gleicher Größenordnung, so daß keine einzige einzeln sich auf der Kurve heraushebt. Es kommen hier von bekannten Substanzen in Betracht: Phosphorsäure, Fettsäuren, Milchsäure, und Peptone und Eiweiß. Zunächst läßt sich die Rolle der Phosphorsäure leicht dadurch feststellen, daß man sie ausschaltet:

Eine Probe desselben Magensaftes wird mit starker NaOH gegen Phenolphthalein eben alkalisch gemacht, mit ein wenig $BaCl_2$ versetzt, von dem ausgefallenen Bariumniederschlag abfiltriert, 10 ccm des Filtrats mit kleinsten Tröpfchen starker HCl vorsichtig unter elektrometrischer Kontrolle auf die ur-

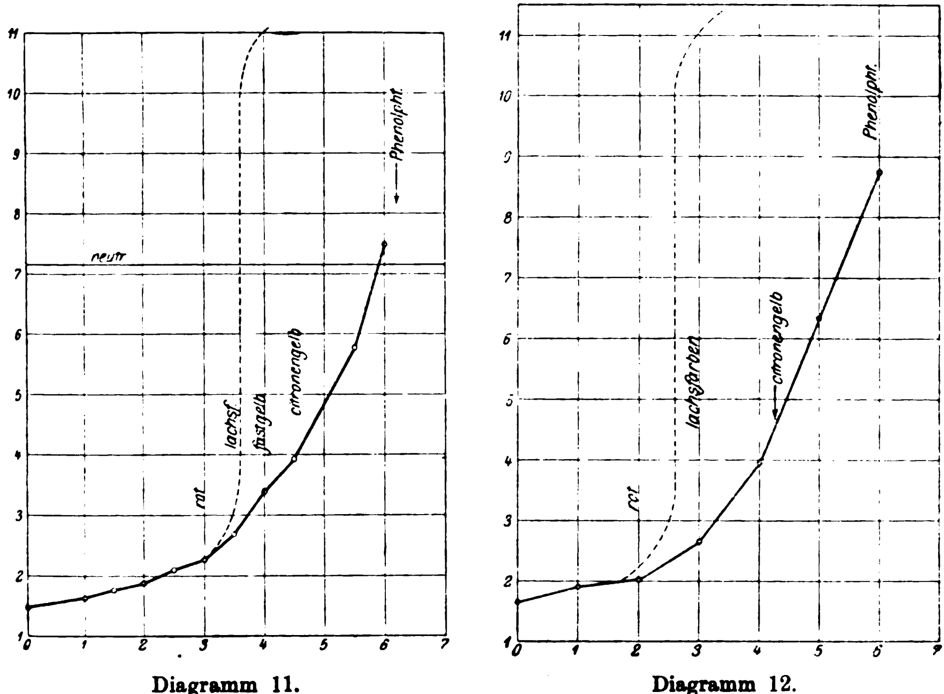


Diagramm 11. Diagramm 12.

Andere Magensäfte nach Probefrühstück.

sprüngliche [H˙] gebracht und nun nochmals elektrometrisch titriert. Es wurde die Kurve II erhalten. Man erkennt deutlich das Fehlen einer gewissen Säuremenge. Nach anfänglich gleichem Verlauf (solange nämlich noch freie HCl vorhanden ist) weicht die Kurve II etwas ab und erreicht den Neutralpunkt etwas früher. Erst ganz spät fließen die Kurven wieder zusammen. Der Horizontalabstand gleicher Ordinaten ist zuerst = 0, wächst schnell und erreicht bis zur Ordinate 4 bis 5 einen gewissen Wert, dieser verdoppelt sich weiterhin bis etwa zum Neutralpunkt, verdreifacht sich weiterhin, bis schließlich wegen des allzu flachen Verlaufs ein Urteil nicht mehr möglich ist. Hier zeigt sich in einer wegen der geringen Substanzmenge

nicht eben sehr deutlichen Weise zunächst die Absättigung der freien Phosphorsäure, dann die des primären, schließlich die des sekundären Phosphats. Die Menge der vorhandenen Phosphorsäure entspricht also nur einem kleinen Bruchteil eines Kubikzentimeters 0,1 norm. Lauge, ganz entsprechend den chemischen Analysen von Toepfer.

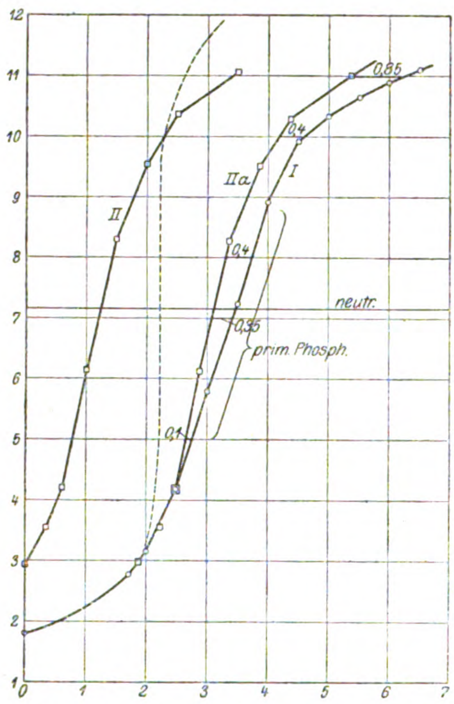


Diagramm 13. I Magensaft nach Probefrühstück. II Derselbe Saft nach Entfernung der Phosphate; die nachträgliche Ansäuerung hat die ursprüngliche Acidität nicht ganz erreicht. Die Kurve wird deshalb zum Vergleich an I herangeschoben (IIa). Der Horizontalabstand gleicher Ordinatenpunkte vergrößert sich immer mehr, entsprechend der dreibasischen Natur der Phosphorsäure.

Da Milchsäure nach den Analysen von Boas nicht und Fettsäuren auch nicht oder doch nur in Spuren vorhanden sind, so bleiben zur Erklärung der Abflachung der ganzen Kurve nur Eiweiß und Peptone übrig, die in Form ihrer Hydrochloride zugegen sein müssen. Wir bestätigen somit die schon von Boas, Toepfer und Christiansen vertretene Anschauung, daß die Salzsäure fast die einzige Säure des normalen Mageninhalts ist, die zum Teil „frei“, zum Teil als Peptonhydrochlorid oder „gebunden“ vorhanden ist.

Alle diese Peptone sind nun amphotere Elektrolyte. Soweit die Dissoziationskonstanten wenigstens der Aminosäuren und Polypeptide bekannt sind, liegen die Säurenkonstanten zwischen 10^{-8} und 10^{-10}, die Basenkonstanten etwa von 10^{-11} bis 10^{-12}. Wahrscheinlich sind die höheren Eiweißkörper im

allgemeinen noch etwas stärkere Säuren. Der isoelektrische Punkt dürfte im allgemeinen ein klein wenig saurer als der Neutralpunkt sein (er ist für Glykokoll $2{,}6 \cdot 10^{-7}$, Alanylglycin $3 \cdot 10^{-6}$, genuines Serumalbumin $3{,}8 \cdot 10^{-6}$). Der Theorie nach haben wir also zu erwarten, daß alle diese Stoffe bei höheren Acidi-

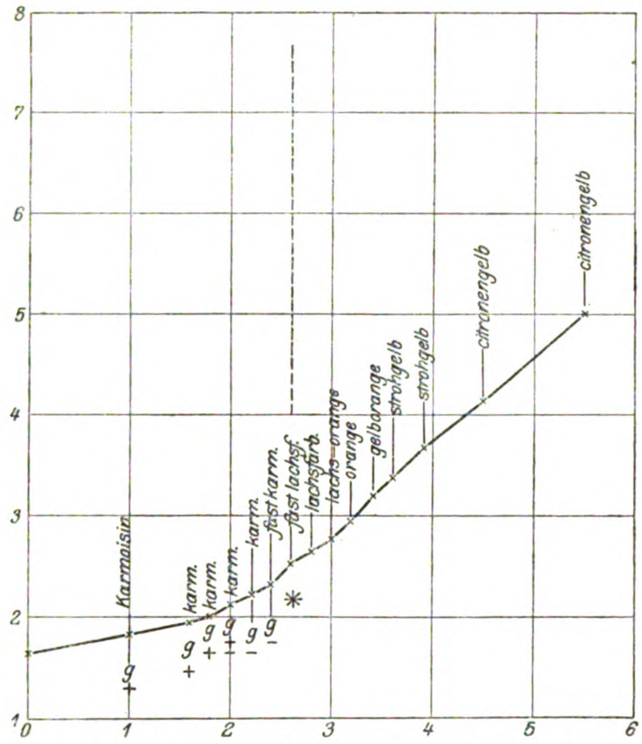


Diagramm 14. Magensaft nach Probefrühstück, nur im sauren Gebiete, aber in sehr kleinen Stufen austitriert. Man beachte, entsprechend der punktierten „Schlußordinate der freien Salzsäure", die kleine durch einen Stern bezeichnete Aufbiegung. g = Günzburgsche Reaktion.

täten bis zu etwa $p_H = 6$ oder 7 als Basen, bei alkalischerer Reaktion als Säuren auftreten. Dies müßte sich auch in den Kurven bemerkbar machen, und in der Tat stimmen die Kurven zu dieser Theorie. Denn die Kurven gehen, nachdem sie den Neutralpunkt ungefähr erreicht haben, nicht steil in die Höhe, sondern schreiten durch ihn ohne wesentliche Änderung der Neigung und flachen ganz allmählich ab. Eine Grenze, wo

die Peptone ihre Basennatur verlieren und Säurenatur gewinnen, ist nicht zu erkennen. Bei einer *einzelnen* Aminosäure (siehe oben Glykokollchlorhydrat + HCl) ist das sehr deutlich zu erkennen, bei einem komplizierten Gemisch verschiedener amphoterer Elektrolyte aber überlagern

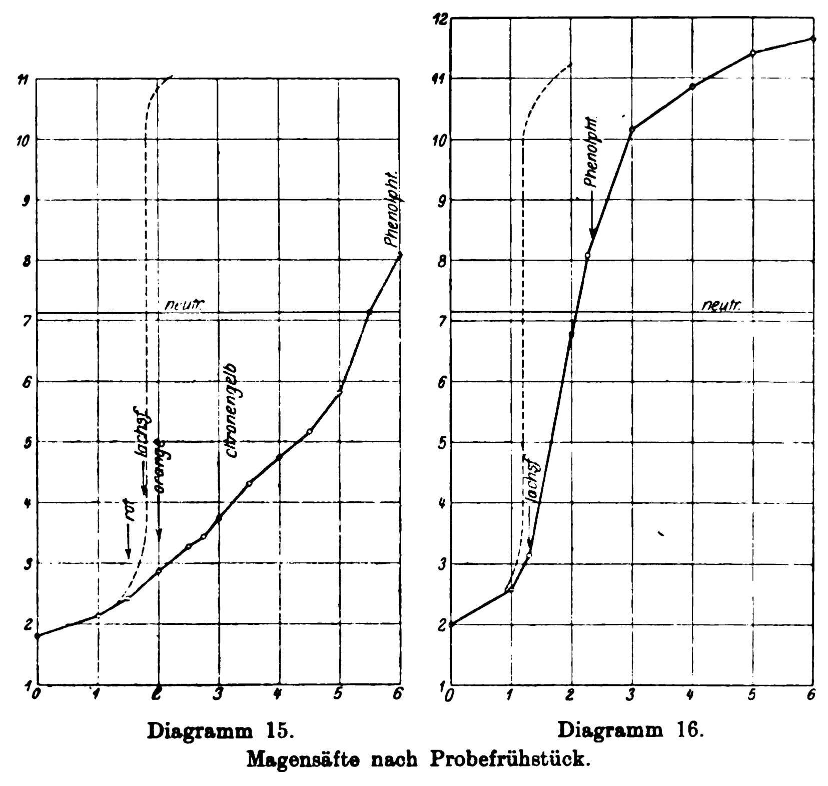


Diagramm 15. Diagramm 16.
Magensäfte nach Probefrühstück.

sich die einzelnen Abflachungen und verwischen sich zu einer einheitlichen langen Abflachung. Es müssen übrigens sehr zahlreiche Einzelkonstanten sein, die durch die verschiedenen Peptone repräsentiert werden, damit die Kurve zu einer so fast einheitlichen Linie verschmelzen kann. Die Menge der Basen (und Säuren), die in Form von Peptonen vorhanden sind, muß ferner sehr groß sein, so groß, daß der Äquivalentgehalt an Peptonen viel größer wird, als man bei der hochmolekularen Natur derselben erwarten darf. Das beruht offenbar darauf, daß jedes einzelne Pepton eine vielsäurige Base und eine vielbasische Säure ist. Die Äquivalentkonzentration an Peptonen

ist somit sehr viel kleiner, als es bei oberflächlicher Schlußfolgerung aus den Kurven zunächst erscheint.

Im Wesen dasselbe Bild zeigen alle untersuchten Magensäfte, wenn sie frei von Milchsäure sind.

Wir finden hier Kurven von Säften mit allen Abstufungen der ursprünglichen Acidität. Das Koordinatennetz ist überall das gleiche, alle Kurven sind miteinander vergleichbar. Überall ist aus der anfänglich gemessenen [H˙] durch Vermehrung dieses Wertes um rund 10 °/₀ und entsprechende Umrechnung die Laugenmenge ermittelt, die zur Neutralisierung dieser Säuremenge genügen würde, und die theoretisch zu erwartende Fortsetzung der Kurve, wenn nur diese freie HCl zugegen wäre, ist überall gestrichelt angedeutet. Die gestrichelte Fortsetzung ist ja im wesentlichen eine Senkrechte und stellt gewissermaßen die „Schlußordinate" der freien Salzsäure dar. Die Laugenmenge, die von dieser Schlußordinate an bis zu einem allerdings nicht sehr genau anzugebenden, aber jedenfalls fast am Neutralpunkt gelegenen Punkt, bis p_H etwa = 6 bis 7, verbraucht wird, ist die an Pepton gebundene Salzsäure einschließlich allerdings der Phosphorsäure, die jedoch nur einen sehr kleinen Betrag der Gesamtsäure darstellt und für die klinische Beurteilung des Magensaftes keinen belangreichen Fehler verursacht. Im übrigen ist diese Phosphorsäure

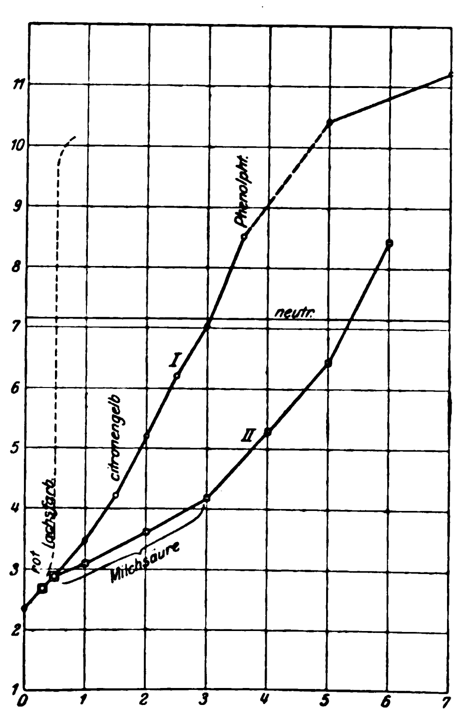


Diagramm 17. I Magensaft nach Probefrühstück, Subacidität. II Derselbe Saft nach künstlichem Zusatz von 2 °/₀₀ Milchsäure.

im salzsäurehaltigen Magensaft nur in Form der freien Phosphorsäure enthalten. Daß bei so hohen Aciditäten saure Phosphate im Magensaft existenzfähig seien, wie man gewöhnlich annimmt, ist ganz ausgeschlossen.

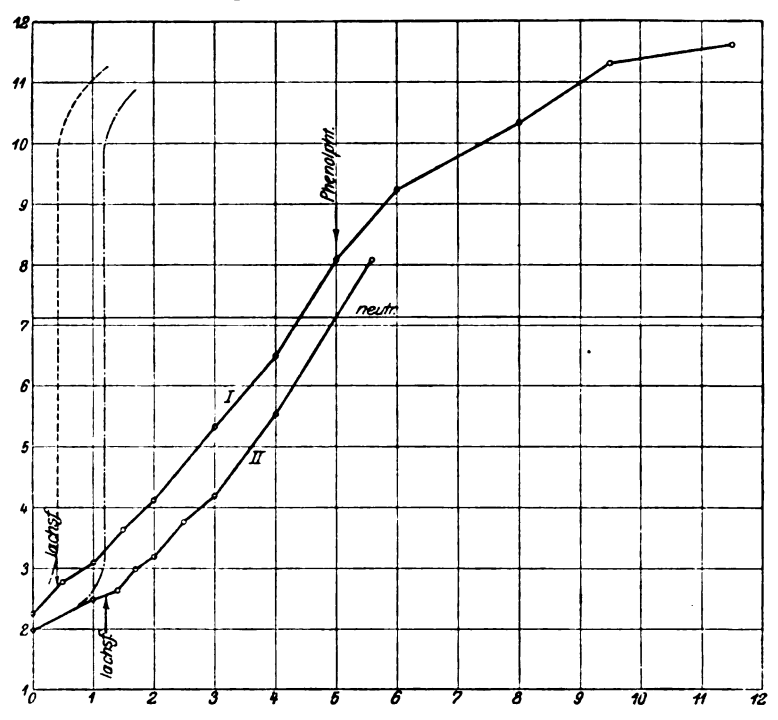


Diagramm 18. **Subacider Magensaft nach Probefrühstück, an zwei verschiedenen Tagen von demselben Kranken gewonnen.**

D. Die Bestimmung der $[H^{\cdot}]$ oder der freien Salzsäure durch Titration.

Die Bestimmung des $[H^{\cdot}]$ ist einfach auf elektrometrischem Wege im unveränderten Magensaft ohne jeden Zusatz zu gewinnen. Die freie Salzsäure erhalten wir, wie oben erörtert, durch Vermehrung dieses Wertes um $10^0/_0$ oder durch Multiplikation mit 1,1; wir erhalten die Salzsäure ausgedrückt in Normalität. Eine Normalität z. B. von 0,021 würde nach dem gewöhnlichen Sprachgebrauch der Magenchemie eine Acidität von 21 bedeuten. Im Grunde ist also die freie HCl überhaupt nicht durch eine Titration, sondern nur elektrometrisch zu be-

stimmen. Es bestünde aber zur Erleichterung der Bestimmung wohl das Bedürfnis, ein wenn auch nur empirisches Titrationsverfahren auszuarbeiten, das an dem elektrometrischen Verfahren durch Vergleich geeicht ist. Schon Johanne Christiansen hat dies mit Erfolg versucht und nachgewiesen, daß die Titration gegen Lauge mit Günzburgscher Reaktion als Indicator Werte liefert, die mit der elektrometrischen Methode annähernd übereinstimmen, während alle anderen Indicatoren mehr oder weniger falsche Werte liefern, wie ich es früher z. B. für Methylorange schon nachgewiesen habe. Wir wollen dieses Problem in noch anderer Weise als Christiansen behandeln.

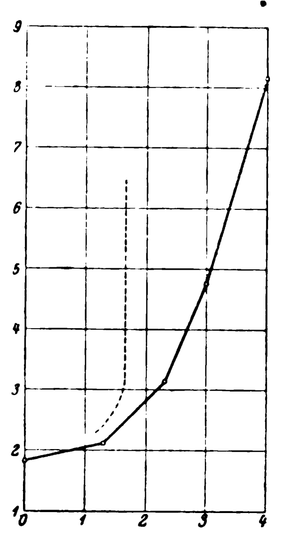


Diagramm 18a. Normaler Magensaft nach Probefrühstück bei Atonie des Magens.

Die Möglichkeit einer titrimetrischen Methode würde dann gegeben sein, wenn sich nachweisen ließe, daß alle Magensäfte, die bis zur Absättigung der elektrometrisch vorher bestimmten freien HCl mit Lauge versetzt sind, die gleiche [H·] besitzen und daher durch einen geeigneten Farbindicator kenntlich zu machen sind. Prüfen wir, ob dies der Fall ist.

Es wurde eine Reihe von Magensäften nach Probefrühstück zunächst elektrometrisch gemessen, der erhaltene Wert durch Multiplikation mit 1,1 korrigiert und eine nach Maßgabe dieser Berechnung äquivalente Menge NaOH zugesetzt. In dieser Lösung wurde dann die [H·] gemessen. (S. Tabelle S. 24.)

Die größte Abweichung nach unten ist Nr. 1 ($p_H = 2{,}36$), nach oben Nr. 8 ($p_H = 2{,}9$). Die erste ist praktisch immer noch belanglos und zweifelhaft auf unvollkommene Einübung des Verfahrens zurückzuführen; die zweite entstammt einem Fall, wo die Kurve so steil durch den fraglichen Punkt geht, daß es ganz belanglos wäre, z. B. 2,5 statt 2,9 anzunehmen. Ich wollte die unbeeinflußt gewonnene Zahl nur nicht nachträglich ad hoc korrigieren.

Magensaft Nr.	Ursprüngliche [H·]	Zugesetzte ccm der 0,1 norm. Lauge	p_H nach dem Zusatz der Lauge
1	0,0235	2,61	2,36
2	0,0259	2,88	2,45
3	0,0156	1,73	2,76
4	0,00269	0,30	2,68
5	0,0412	4,57	2,60
6	0,0155	1,72	2,60
7	0,0339	3,75	2,65
8	0,0107	1,20	2,90
9	0,00375	0,40	2,70
10	0,0108	1,20	2,55
11	0,0237	2,60	2,50
		Im Mittel	2,61

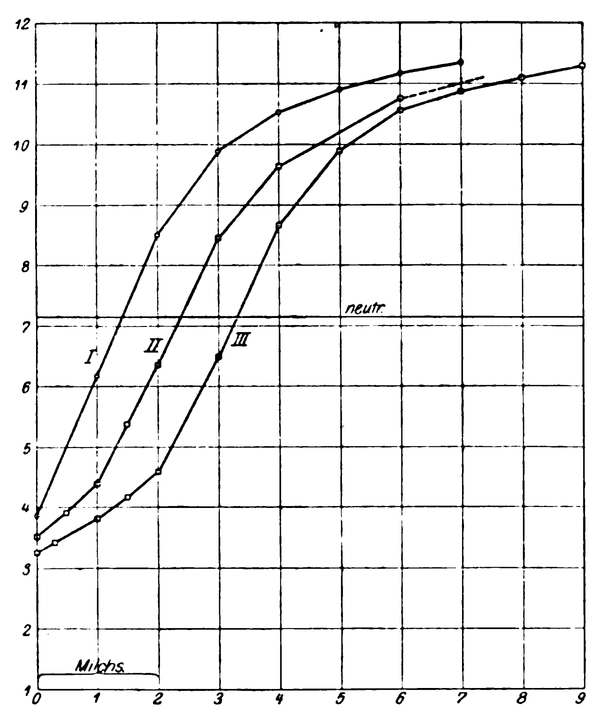


Diagramm 19. I Magensaft ohne Salzsäure (Carcinom ohne Stauung). II Derselbe nach Zusatz von 0,08 % Milchsäure, III nach Zusatz von 0,16 % Milchsäure.

Es herrscht also eine sehr befriedigende Übereinstimmung der verschiedenen p_H der letzten Spalte, obwohl die ursprüng-

liche [H·] der Säfte ganz verschieden voneinander waren. Das ist folgendermaßen zu erklären. Solange freie HCl im Überschuß ist, also im ursprünglichen Magensaft, wird die Hydro-

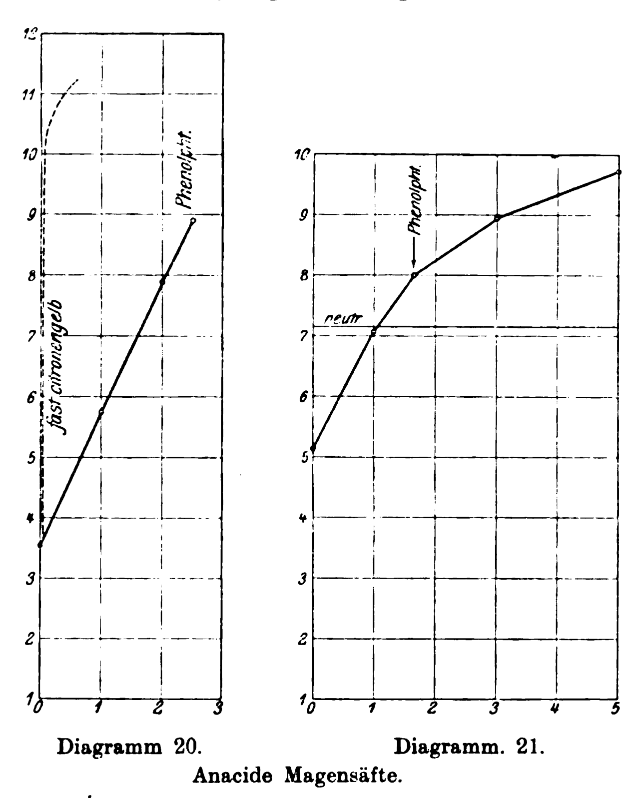


Diagramm 20. Diagramm. 21.
Anacide Magensäfte.

lyse der Pepton-Hydrochloride stark zurückgedrängt. In dem Maße aber, wie überschüssige HCl durch die Titrationslauge neutralisiert wird, tritt durch Hydrolyse der Pepton-Hydrochloride neue HCl auf. Ist alle überschüssige HCl neutralisiert, so ist reines Pepton-Hydrochlorid in Lösung, das eine ganz bestimmte Hydrolyse zeigt und daher auch eine ganz bestimmte [H·] hat, die von der Konzentration dieses Hydrochlorids abhängt. Aber die [H·] in der Lösung des Hydrochlorids einer schwachen Base ist nur der Wurzel aus der Konzentration desselben proportional. Wenn also nicht geradezu gewaltige Schwankungen des Peptongehaltes vorkommen, wird die [H·] im Magensaft nach Absättigung der freien HCl stets fast die gleiche sein; es wird p_H stets

etwa 2,6 sein, oder $[H^{\cdot}]$ stets etwa 0,0025 normal sein; d. h. nach Absättigung der ursprünglich frei gewesenen HCl tritt durch Hydrolyse nochmals freie Salzsäure in einer Konzentration von 0,025 norm. auf.

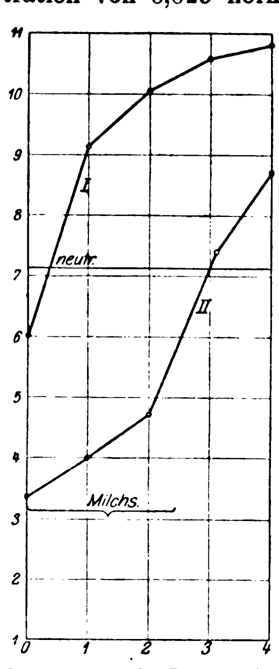


Diagramm 22. I. Anacider Magensaft. II Nach Zusatz von 0,16 % Milchsäure.

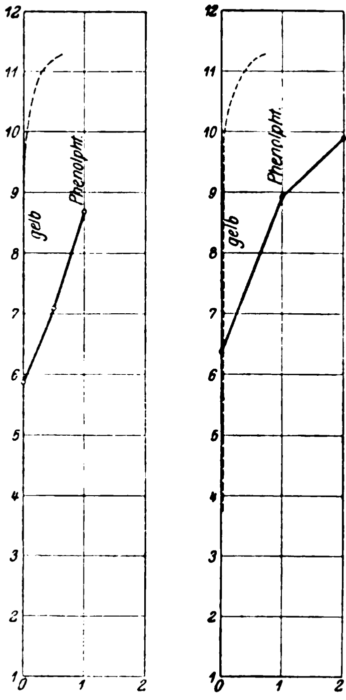


Diagramm 23. Diagramm 24.
Anacide Magensäfte.

Dieser Umstand, daß sich die Menge der „freien" HCl infolge der Manipulation des Titrierens in sehr komplizierter Weise dauernd verschiebt, und der mir früher die Titration der freien HCl unmöglich zu machen schien, muß nach erneuter Überlegung jetzt geradezu als ein günstiger Umstand für die Möglichkeit der Titration angesehen werden.

Es kommt also nur darauf an, den Magensaft bis zu demjenigen Punkt als Endpunkt zu titrieren, der durch $p_H = 2,6$ charakterisiert ist und diesen durch einen geeigneten Indicator anzuzeigen. Ich fand in dem Dimethylamidoazobenzol einen geeigneten Indicator. Man darf aber nicht, wie es sonst üblich ist, bis zur rein gelben Farbe titrieren, sondern nur so weit, bis die ursprünglich karmoisinrote Farbe lachsfarben

geworden ist. Ein deutliches Orange ist schon zu weit. Im Zweifelfalle wähle man den Endpunkt lieber zu rot als zu orange.

Der so definierte Endpunkt der Titration läßt sich zwar nicht haarscharf bestimmen, jedoch ist der Spielraum, innerhalb dessen man in Zweifel sein kann, bei Titration von 10 ccm Saft auch ohne besondere Einübung gewiß niemals mehr als 0,3 ccm. Diese Genauigkeit ist für klinische Zwecke durchaus hinreichend. Es ist auch nicht erforderlich, sich jedesmal eine Farbvergleichslösung daneben zu halten. Um aber den richtigen Farbenton einmal kennen zu lernen, versetze man 10 ccm einfach normaler Essigsäure mit 5 ccm 0,1 norm. KOH und mit 2 Tropfen einer $^1/_2{}^0/_0$igen alkoholischen Lösung von Dimethylamidoazobenzol. Diese Vergleichslösung ist nicht haltbar, die Farbe verblaßt bald; auch ist die [H·] dieser Vergleichslösung ganz anders als bei gleicher Nuance die des Magensaftes, weil der Indicator bei Gegenwart von Peptonen ganz anders zeigt. Es ist auch zu beachten, daß das Dimethylamidoazobenzol auch im Magensaft gerade auf dem Stadium, wo es den lachsfarbenen Übergangston zeigt, allmählich verblaßt. Man darf deshalb nicht gar allzu langsam titrieren. Trotz alledem ist der Indicator brauchbar, so daß ich nicht das Bedürfnis empfunden habe, einen anderen zu suchen.

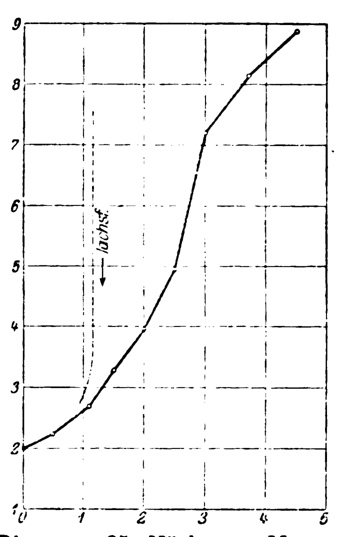


Diagramm 25. Nüchterner Magensaft bei Magensaftfluß. Vgl. hierzu Diagr. 26, S. 33.

Ein Magensaft, der von vornherein mit Dim. lachsfarben wird, enthält demnach nach dieser Bestimmungsmethode „keine freie HCl“, obwohl er die verhältnismäßig hohe [H·] von 0,0025 norm. hat. Diese Acidität verdankt er aber dennoch „freier Salzsäure“, nämlich derjenigen, die bei Abwesenheit überschüssiger HCl aus Peptonhydrochlorid durch Hydrolyse entsteht. Wenn wir also sagen, daß ein solcher Saft nur „gebundene“

HCl enthält, so ist das eigentlich nicht richtig. Dieser Widerspruch beruht auf dem streng genommen überhaupt unzweckmäßigen Begriff der freien Salzsäure. Ein Streit darüber, ob ein solcher Saft freie Salzsäure enthält oder nicht, ist daher nutzlos. Um den eingebürgerten Begriff der freien HCl nicht ganz zu verwerfen, wollen wir ihm lieber eine exakte Definition geben, die sinngemäß das trifft, was eigentlich damit gemeint ist: freie HCl ist diejenige HCl, die mehr vorhanden ist, als dem Äquivalent der Peptone entspricht. In diesem Sinne enthält also ein Magensaft, der gerade lachsfarben gegen Dim. reagiert, soeben keine freie HCl mehr.

Vergleichen wir diese Methode mit der von J. Christiansen, so beruht sie trotz scheinbarer Ähnlichkeit auf einem ganz anderen Prinzip. Diese Methode besteht nämlich darin, daß der Magensaft so weit mit Lauge titriert wird, bis ein Tröpfchen desselben keine Günzburg-Reaktion mehr gibt. Christiansen gibt ausdrücklich an, daß dieses Reagens nicht auf eine bestimmte [H·], sondern in spezifischer Weise auf freie Salzsäure (und einige andere, im Magen nicht vorkommende Säuren) reagiere. Das Prinzip ist also anders, es fragt sich nur, wieweit beide Methoden in sich und mit der Gaskettenmethode übereinstimmen. Daß meine Methode mit der Gaskette befriedigend übereinstimmt, habe ich schon gezeigt. Die Christiansensche Methode habe ich in einigen Fällen mit den beiden anderen verglichen und meist ein wenig geringere Werte für die freie HCl erhalten. In Fig. 14 ist Punkt für Punkt bei jedem gemessenen p_H die Farbe des Indicators und die Günzburgsche Reaktion angeschrieben. Das Ende der Günzburgschen Reaktion entspricht 2,0 ccm Lauge, der lachsfarbene Dim.-Punkt 2,6 ccm Lauge, mit der Maßgabe, daß auch der Ungeübteste einerseits 3,0 und andererseits 2,4 als falsch erkennen würde. Nach der Gaskettenmethode ergibt sich, den Dissoziationsgrad der HCl = 0,9 gesetzt, 2,6 ccm. Der nach meiner Methode gewonnene Wert ist hier also genau richtig, der nach Christiansen gewonnene etwas zu klein. Ich glaube gern, daß die letztere Methode bei guter Einübung noch bessere Resultate geben wird, aber jedenfalls leistet sie wahrscheinlich nicht mehr als meine Methode, trotz ihrer viel größeren Umständlichkeit. Ihr gebührt allerdings andererseits das Verdienst, die

Frage nach der annähernden Titrierbarkeit der freien Salzsäure mit modernen Anforderungen zuerst gelöst zu haben.

E. Die gebundene Salzsäure.

Die titrimetrische Bestimmung der gebundenen Salzsäure besteht demnach in der Feststellung derjenigen Laugenmenge, die von dem lachsfarbenen Dim.-Punkt bis zum isoelektrischen Punkt der Peptone verbraucht wird. Da dieser nicht einheitlich ist, so werden wir statt dessen den durchschnittlichen isoelektrischen Punkt wählen. Von diesem können wir nur sagen, daß er wahrscheinlich zwischen $p_H = 6$ und $= 7$ liegt. Einigen wir uns vorläufig auf 6,5. Hierin liegt zwar eine gewisse Willkürlichkeit, die jedoch keinen erheblichen Fehler in sich schließen kann, da die Kurven zwischen $p_H = 6$ und 7 auf alle Fälle so steil verlaufen, daß die zwischen diesen beiden Punkten verbrauchte Laugenmenge stets sehr gering ist. Sie beträgt meist weniger als 0,5 ccm, und der Fehler, den die willkürliche Wahl des Punktes 6,5 ergeben kann, ist daher im höchsten Fall $\pm$ 0,25 ccm 0,1 norm. Lauge; die sanfteste Kurve (Diagramm 18), die eine Ausnahme darstellt, würde schlimmstenfalls einen doppelt so großen Fehler erzeugen. Aber selbst in solchen Ausnahmefällen wäre der gemachte Fehler für klinische Zwecke durchaus erträglich. Es fragt sich nun, ob wir den Punkt $p_H = 6,5$ mit Indicatoren gut bestimmen können. Zweifellos gibt es mehrere hierfür brauchbare Indicatoren, z. B. die übliche Titration mit Alizarinrot oder Lackmuspapier entfernt sich nicht weit von dieser Forderung. Alizarinrot ist recht bequem; im Magensaft entspricht $p_H = 6,5$ dem Punkt, wo die blutrote Farbe auftritt; der Endpunkt ist einigermaßen scharf.

Wir können aber die Bestimmuug der freien und gebundenen Salzsäure auch an einer Probe Magensaft durchführen, wenn wir das an manchen Kliniken schon übliche Verfahren anwenden, gleichzeitig Dimethylamidoazobenzol und Phenolphthalein zuzusetzen. Zwar ist nicht der Umschlagspunkt des Phenolphthaleins der gesuchte Endpunkt, er läßt sich aber leicht aus ihm ermitteln. Das erste Auftreten der Phenolphthaleinfarbe (graurote Färbung der vorher citronengelben Flüssigkeit) entspricht nach meinen Messungen einem $p_H = 8,2$. Ferner

können wir mit Hilfe des Dim. noch einen anderen Punkt mit genügender Schärfe festlegen, wo es nämlich gerade beginnt, rein citronengelb zu werden und durch weiteren Laugenzusatz seine Nuance absolut nicht mehr ändert. Dieser Punkt entspricht $p_H = 4$ bis 4,5. Da nun die Neutralisationskurve zwischen diesem und dem Phenolphthalein-Punkt annähernd geradlinig und noch dazu ziemlich steil verläuft, so trifft es sich, daß der gewünschte Endpunkt einigermaßen genau in der Mitte zwischen diesen beiden Punkten liegt. Es ist daher für klinische Zwecke genügend genau, wenn man die Mitte zwischen diesen beiden Punkten als Endpunkt der gebundenen HCl rechnet.

Zweifellos ist die beste Methode zur Bestimmung der gesamten HCl die chemische Analyse nach Sjöquist in irgendeiner der empfohlenen Modifikationen. Sie ist aber viel zu kompliziert, um eine laufende klinische Methode werden zu können. Sehr gut ist auch die Titration durch Tüpfeln gegen Lackmuspapier, die Johanne Christiansen empfohlen und stets in guter Übereinstimmung mit der Sjöquistschen Methode gefunden hat. Ihr Nachteil aber ist, daß es erstens eine Tüpfelmethode ist, die viel mehr Zeit erfordert als eine gewöhnliche Titration, und daß zweitens die Herstellung und Instandhaltung eines guten Lackmuspapiers, das den richtigen Endpunkt anzeigt, besondere Sorgfalt erfordert.

Es fragt sich, wie sich die von mir empfohlene Methode zur Christiansenschen verhält. Christiansen gibt den Umschlagspunkt des Lackmuspapiers zu $p_H = 7$ an, während wir als Ende $p_H = 6,5$ annahmen. Der Unterschied ist in Anbetracht dessen, daß die Kurve an dieser Stelle sehr steil verläuft, zwar gering; immerhin aber war es von Interesse, zu untersuchen, ob der Christiansensche Umschlagspunkt wirklich $p_H = 7$ entsprach. Es wurden einige Magensäfte so weit titriert, daß sie mit frischem, nach der Sörensenschen Vorschrift hergestelltem Lackmuspapier den Endpunkt anzeigten. Wie bei dem sehr steilen Verlauf der Kurve an dieser Stelle nicht anders zu erwarten war, zeigten die Bestimmungen nicht gerade sehr gute Übereinstimmung, lassen aber doch deutlich erkennen, daß der Endpunkt des Lackmuspapiers in der Tat besser mit $p_H = 6,5$ als $p_H = 7$ bezeichnet wird.

a) Magensaft ohne freie HCl
bei $p_H = 6,93$ Lackmuspapier bleibt blau,
$p_H = 6,52$ Spürchen rot.
b) Magensaft ohne freie Salzsäure
bei $p_H = 6,62$ blau,
$p_H = 6,30$ Spur rot.
c) Hyperacider Magensaft
bei $p_H = 6,39$ blau,
$p_H = 6,01$ Spürchen rot.

Eine wirklich scharfe Endpunktbestimmung ist mit Lackmuspapier schwer, und daher kommen wohl die Differenzen der verschiedenen einzelnen Bestimmungen. Praktisch fällt das allerdings gegen die Christiansensche Methode nicht ins Gewicht, da diese Differenzen im höchsten Fall einem Unterschied von 0,2 ccm $^n/_{10}$ norm. NaOH (also einer Aciditätsdifferenz von 2) entsprechen dürften. Wir sehen also, daß die Resultate der Lackmuspapiertüpfelmethode eigentlich auf denselben Endpunkt hin gerichtet sind, den wir als den theoretisch wahrscheinlich richtigsten erkannt haben.

Ich empfehle daher, für die Aciditätsbestimmungen im Magensaft

A. Exakte Methode für wissenschaftliche Forschungen:

a) Bestimmung der freien HCl: durch Messung der $[H^\cdot]$ mit der Gaskette;
b) Bestimmung der gebundenen bzw. gesamten HCl: entweder
chemische Analyse nach Sjöquist oder
elektrometrische Titration bis $p_H = 6,5$,
als befriedigenden Ersatz dafür Tüpfeltitration gegen gutes Lackmuspapier nach Christiansen.

B. Angenäherte, für klinische Zwecke ausreichende Methode:

Gleichzeitiger Zusatz von Dimethylamidoazobenzol und Phenolphthalein zum verdünnten filtrierten Magensaft und Titration auf folgende 3 Endpunkte:

1. Lachsfarbener Punkt des Dimethylamidoazobenzol,
2. endgültiger Umschlag des Dimethylamidoazobenzols in citronengelb,
3. Phenolphthaleinumschlagspunkt.

Durch diese 3 Punkte sind Aciditätsverhältnisse des Magensaftes hinreichend definiert, und zwar bedeutet der erste Punkt das Ende der freien HCl, und die Mitte zwischen dem zweiten und dritten Punkt das Ende des gesamten HCl, vorausgesetzt natürlich, daß der Magensaft keine oder keine merklichen Mengen Milchsäure enthält.

Im Anschluß hieran läßt sich auch leicht eine rationelle Definition des Salzsäuredefizits in einem Magensaft ohne freie Salzsäure geben: Das Salzsäuredefizit ist diejenige Menge 0,1 norm. HCl, die bis zur Erreichung des lachsfarbenen Dim.-Punktes zugesetzt werden muß.

Somit sind einige Vorschriften festgelegt, die einen für klinische Zwecke völlig ausreichenden Einblick in die Aciditätsverhältnisse des Magensaftes geben. Sie sind unter Beibehaltung üblicher Titrierungsverfahren und der gebräuchlichsten Indicatoren möglich gewesen, es handelte sich aber um die wichtige Frage, welche Endpunkte zu wählen sind. Diese Frage konnte durch die Eichung mit Hilfe der elektrometrischen Titration gelöst werden.

Die gewonnenen klinischen Resultate sollen hier noch nicht besprochen werden.

F. Der Nachweis der Milchsäure.

Die Milchsäure gibt sich bei der elektrometrischen Titration stets durch eine sehr deutliche Abflachung zu erkennen, deren Mitte entsprechend der Dissoziationskonstante der Milchsäure bei einem p_H von ungefähr 4 liegt. Während die Kurven des milchsäurefreien Magensaftes von $p_H = 3$ an bis mindestens $p_H = 6$ fast geradlinig, allenfalls mit leichter gleichförmiger Krümmung in die Höhe laufen, erkennt man die Anwesenheit der Milchsäure leicht daran, daß die Kurve um $p_H = 4$ viel flacher verläuft und etwa von $p_H = 4{,}5$ energisch nach oben abbiegt. Man kann die Menge der Milchsäure dadurch abschätzen, daß man, falls diese Abflachung vorhanden ist, diejenige Laugenmenge auf der Abscisse abliest, die zwischen den nach Augenmaß ergänzten „Schlußordinaten“ liegt. Diese Bestimmung ist natürlich nur eine Schätzung, aber sie gibt uns eine genügend brauchbare quantitative Vorstellung.

Wie empfindlich diese Reaktion ist, zeigen uns einige Fälle von Magensaft, die an sich frei von Milchsäure und frei oder beinahe frei von freier HCl, mit ein wenig Milchsäure versetzt wurden. (Fig. 17, II; 10 ccm Saft versetzt mit 2 ccm $^1/_{10}$ norm. Milchsäure = 1 $^0/_{00}$ Milchsäure; ferner Fig. 19, II und III; II enthaltend 0,5 $^0/_{00}$, III enthaltend 1 $^0/_{00}$ Milchsäure. Ferner Fig. 22, II enthaltend 1,6 $^0/_{00}$ Milchsäure.) Da die im Magensaft diagnostisch bedeutungsvollen Mengen von Milchsäure viel größer als diese sind, so erkennt man daraus, daß der Nachweis der Milchsäure auf diese Weise überaus empfindlich ist, daß vor allen Dingen mit großer Bestimmtheit ihr Vorkommen ausgeschlossen werden kann, was man sonst nicht immer eben leicht tun kann.

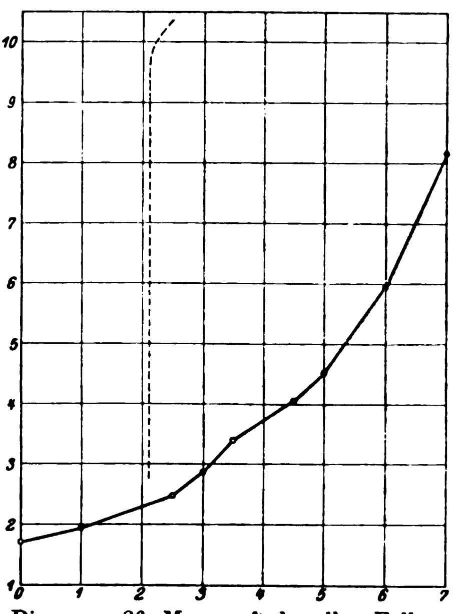


Diagramm 26. Magensaft desselben Falles wie Diagr. 25, 7 Stunden nach Riegelscher Probemahlzeit (mit Sarcinen).

Der Nachweis der Milchsäure gelingt im ursprünglichen Magensaft mit der elektrometrischen Methode nicht immer von vornherein, nämlich dann nicht, wenn die Milchsäure überwiegend in Form ihrer Alkalisalze vorhanden ist. Zum Nachweis der Milchsäure ist es daher notwendig, den Magensaft zunächst mit so viel HCl zu versetzen, daß die Milchsäure frei wird, d. h. bis Dimethylamidoazobenzol karmoisinrot wird, und dann elektrometrisch zurückzutitrieren. Auf diese Weise ist Fig. 27 gewonnen. Man erkennt hier sehr schön die durch die Milchsäure hervorgerufene Abflachung um $p_H = 4$. Der ursprüngliche p_H des Magensaftes ist durch einen Stern bezeichnet. Hätten wir also diesen Magensaft ohne Zusetzung von HCl von hier aus titriert, so hätte sich die Milchsäure nicht bemerkbar gemacht. Es handelte sich hier um

einen Fall von Magencarcinom. In einem anderen Falle von gutartiger Achylie ohne Stauungserscheinung, Fig. 28, zeigt die

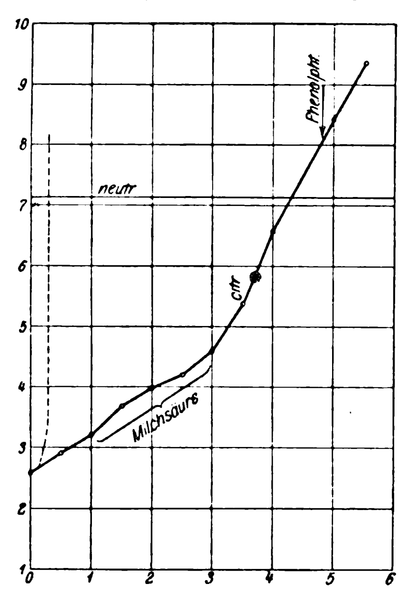


Diagramm 27. Milchsäurehaltiger Magensaft bei Magenkrebs, vor dem Titrieren mit etwas HCl versetzt. p_H des ursprünglichen Magensaftes durch einen Stern markiert.

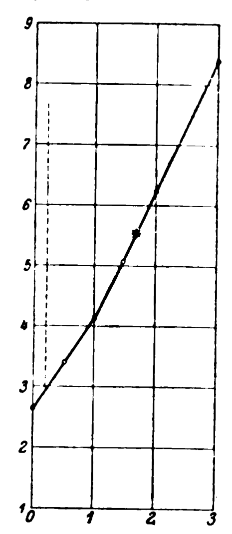


Diagramm 28. Gegenstück hierzu: milchsäurefreier, anacider Magensaft, ebenso wie in Diagramm 27 mit HCl versetzt. Ursprünglicher p_H des Magensaftes durch den Stern markiert.

nach dem gleichen Verfahren gewonnene Kurve keine der Milchsäure entsprechende Abflachung.

Zusammenfassung.

Es wird die Theorie und das Verfahren der elektrometrischen Titration entwickelt und auf den Magensaft angewendet. Auf Grund dieser Untersuchungen wird eine einfache, angenäherte Titrationsmethode für die Zwecke der Klinik begründet, die am Schluß von Abschnitt E zusammengefaßt ist, und ferner den Nachweis der Milchsäure durch elektrometrische Titration gezeigt.

Über Fermentbildung.

Von

Martin Jacoby.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 8. November 1916.)

Ohne Zweifel ist die Frage nach der chemischen Konstitution der Fermente eines der bedeutsamsten Probleme der Biochemie. Aber es muß zugegeben werden, daß wir bisher über diesen wichtigen Punkt nichts wissen und daß auch noch kein Weg bekannt ist, auf dem es aussichtsvoll erscheinen könnte, dieses Ziel anzustreben. Bei der Wichtigkeit des Problems und der Schwierigkeit seiner Bearbeitung erscheint es gerechtfertigt, jede Möglichkeit auszunützen, die vielleicht etwas Licht in das Dunkel bringen könnte.

In der V. Mitteilung[1]) der „Studien zur allgemeinen Vergiftungslehre" habe ich gezeigt, daß die Bildung des Bakterienfermentes, das den Harnstoff spaltet, bereits durch minimale Traubenzuckermengen gesteigert wird. Die Spuren Zucker, die wirksam sind, sind so gering, daß man ihre Funktion nur dahin deuten kann, daß sie als Baustein für die Bildung einer Substanz dienen, die wie die Fermente schon in kleinster Menge gewaltige Wirkungen entfalten können. Es wurde daher auch gleich ausdrücklich hervorgehoben, daß die Beobachtungen einen Weg andeuten, auf dem man etwas über die Konstitution der Fermente erfahren könnte. Als erster Schritt, gleichsam als Vorstudie zu der Synthese der Fermente, wäre aber die Untersuchung anzusehen: welche Bausteine müssen den Bakterien zur Verfügung stehen, damit sie das Ferment bilden können? Um den Traubenzucker als Baustein bei der Fermentbildung richtig bewerten zu können, sind natürlich umfangreiche Untersuchungen darüber notwendig, durch welche ihm mehr oder

[1]) Diese Zeitschrift 77, 405.

weniger chemisch nahestehende Substanzen man ihn dabei ersetzen kann.

Wenn es mir bisher auch erst möglich war, einen begrenzten Kreis solcher Substanzen mit dem Traubenzucker zu vergleichen, so haben sich doch bereits bei diesen Untersuchungen Resultate ergeben, die die Bedeutung des Traubenzuckers als Fermentbaustein schärfer präzisieren lassen.

Es wird zweckmäßig sein, zunächst alle experimentellen Ergebnisse mitzuteilen und dann in einem besonderen Kapitel die Resultate zusammen zu diskutieren.

I.

Nach welchen Gesichtspunkten die zu prüfenden Substanzen ausgesucht wurden, wird der chemisch gebildete Leser ohne weiteres erkennen. Man wird manchen Stoff vermissen, dessen Untersuchung Interesse gehabt hätte, auf den ich aber zur Zeit aus Mangel an Material verzichten mußte. Ich werde mich bemühen, später die Liste zu vervollständigen.

Besonderen Wert habe ich darauf gelegt, alle Untersuchungen nach dem gleichen Schema durchzuführen, um beweisende Vergleiche zu ermöglichen.

Wie in vielen früher veröffentlichten Versuchen über Harnstoffspaltung wurden auch jetzt immer für jede Probe 20 ccm einer 2%igen Harnstofflösung verwandt, immer kam 1 ccm Olivenöl dazu, um das Schäumen bei der Destillation zu vermeiden, die zu prüfenden Substanzen wurden gelöst hinzugesetzt. Vor der gelösten Substanz wurde noch so viel Wasser zu der Harnstofflösung zugesetzt, daß das Gesamtvolumen außer dem Öl 30 ccm betrug. Zum Schluß kam dann zu dem Gemisch 0,5 ccm der Bakterienbouillonkultur. Fast immer wurden 1- bis 2 tägige Kulturen, in einzelnen Ausnahmefällen auch 3 tägige Kulturen verwandt. Da das Alter der Kulturen für die Beurteilung der Resultate ohne Belang ist, lasse ich in den Protokollen der Kürze wegen die Angabe darüber weg.

Selbstverständlich wurde in den Kontrollen genau die gleiche Verdünnung hergestellt wie in den Versuchen mit Zusatz.

In bezug auf das analytische Vorgehen verweise ich, da keinerlei Neuerungen eingeführt wurden, auf die genauen Angaben in den früheren Mitteilungen.

Traubenzucker.

Reinstes Präparat von Kahlbaum.

Traubenzucker	Mit Traubenzucker	Ohne Traubenzucker
100 mg	115,8	65,0
	116,5	65,5
10 „	106,9	60,4
	108,5	61,5
1 „	82,6	54,8
	82,7	60,3
0,2 „	68,5	
	70,0	56,8
0,1 „	62,0	58,3
	63,7	

d-Galaktose.

Reinstes Präparat von Kahlbaum.

d-Galaktose	Mit Galaktose	Ohne Galaktose
100 mg	92,6	35,2
	98,5	38,2
100 „	103,8	
	106,5	46,0
10 „	102,7	47,1
	106,4	
1 „	67,0	41,0
	68,2	41,3
1 „	70,4	
	71,0	38,2
0,1 „	48,6	39,9
	49,5	

d-Mannose.

Reinstes Präparat von Kahlbaum.

Mannose	Mit Mannose	Ohne Mannose
100 mg	42,6	39,8
	43,2	40,2
100 „	31,2	33,0
	33,0	
100 „	44,9	50,5
	46,5	52,0
10 „	38,8	39,8
	39,5	40,2

d-Fructose.

Reinstes Präparat von Kahlbaum.

Fructose	Mit Fructose	Ohne Fructose
100 mg	55,4	35,2
	57,6	38,2
50 „	64,7	
	67,0	47,0
10 „	54,5	47,4
	57,5	

d-Sorbinose.

Präparat von Professor Neuberg[1]).

Sorbinose	Mit Sorbinose	Ohne Sorbinose
100 mg	53,5	
	54,2	56,0
50 „	55,0	57,1
	56,0	

Rohrzucker.

Saccharose aus indischem Rohrzucker (Kahlbaum).

Rohrzucker	Mit Rohrzucker	Ohne Rohrzucker
100 mg	71,0	69,5
	71,0	70,15

Milchzucker.

Reinstes Präparat von Kahlbaum.

Milchzucker	Mit Milchzucker	Ohne Milchzucker
100 mg	49,0	47,2
	49,7	48,9
10 „	47,5	
	49,0	50,6
1 „	46,6	52,0
	47,3	

Maltose.

Reinstes Präparat von Kahlbaum.

Maltose	Mit Maltose	Ohne Maltose
100 mg	64,4	
	65,7	56,0
10 „	57,15	57,3
	58,7	

---

[1]) Herr Professor Neuberg hat mir auf meine Bitte eine Anzahl kostbarer Substanzen überlassen, wofür ich ihm auch an dieser Stelle bestens danke.

Raffinose.

Reinstes Präparat von Kahlbaum.

Raffinose	Mit Raffinose	Ohne Raffinose
100 mg	58,5	58,1
	59,6	62,5

α- und β-Methylglykosid.

Kahlbaums Präparate.

Methylglykosid	Mit α-Glykosid	Mit β-Glykosid	Ohne Glykosid
100 mg	53,5	56,6	60,6
	54,3		63,5
20 „	69,3	68,8	68,3
			70,6

Heptose.

Schuchardt.

Heptose	Mit Heptose	Ohne Heptose
100 mg	38,0	
	39,2	42,6
10 „	41,3	43,0
	41,7	

l-Arabinose.

Kahlbaum.

Arabinose	Mit Arabinose	Ohne Arabinose
100 mg	55,1	33,0
	57,0	
100 „	72,4	50,5
	72,6	52,0
50 „	54,1	
	56,0	47,0
10 „	46,0	48,0
	47,9	

Vergleich von d-Arabinose (Präparat von Neuberg) mit l-Arabinose (Kahlbaum).

Arabinose	Mit d-Arabinose	Mit l-Arabinose	Ohne Arabinose
100 mg	59,5	61,1	34,7
	59,7	61,1	36,4
50 „	60,5	55,0	44,8
	60,7	56,0	46,0

Rhamnose.

Kahlbaum.

Rhamnose	Mit Rhamnose	Ohne Rhamnose
100 mg	62,0	
	64,6	63,6
10 „	61,1	64,0
	63,5	

Glycerin

doppelt destilliert, spez. Gew. 1,23.

Glycerin	Mit Glycerin	Ohne Glycerin
0,1 ccm	99,9	58,1
	102,4	62,5
0,1 „	96,8	57,0
	97,1	57,5
0,01 „	95,6	57,0
		57,5
0,001 „	83,8	
	85,7	51,9
0,0001 „	54,2	52,8
	59,1	

d, l-Glycerinaldehyd.

Präparat von Neuberg.

Glycerinaldehyd	Mit Glycerinaldehyd	Ohne Glycerinaldehyd
100 mg	26,2	62,75
	37,6	64,5
50 „	44,7	49,4
	46,1	53,9
10 „	78,2	62,75
	78,8	64,5
1 „	74,4	49,4
	84,3	53,9
1 „	74,6	
	75,0	46,5
0,05 „	49,6	47,2
	52,5	

Dioxyaceton.

Dioxyaceton	Mit Dioxyaceton	Ohne Dioxyaceton
100 mg	8,7	
	9,6	53,8
10 „	79,0	55,1
	80,8	
1 „	80,9	
	81,5	61,1
0,1 „	61,9	63,0
	62,1	

Brenztraubensäure.

Das angewandte Präparat verdanke ich der Güte von Herrn Dr. Dohrn. Die Säure war zum Versuch frisch destilliert und ganz rein. Benutzt wurde sie als Natronsalz.

Brenztraubensäure	Mit Brenztraubensäure	Ohne Brenztraubensäure
100 mg	1,7	
	2,7	46,7
10 „	87,6	53,9
	93,2	
10 „	81,9	
	83,0	60,0
5 „	83,7	62,0
	85,5	
2 „	80,4	
	82,5	60,6
1 „	75,8	66,7
	77,5	
0,5 „	75,3	
	79,5	64,0
0,1 „	64,7	67,0
	67,5	

Milchsäure.

Mir stand ein von Neuberg dargestelltes Präparat von reinstem, krystallisiertem, milchsaurem Natron zur Verfügung.

Milchsaures Natron	Mit Milchsäure	Ohne Milchsäure
100 mg	62,5	
	64,2	41,4
10 „	49,7	41,5
	51,2	
4 „	46,2	
	46,8	36,8
2 „	41,6	37,1
	41,8	

Sorbit.
Kahlbaum.

Sorbit	Mit Sorbit	Ohne Sorbit
100 mg	42,4	
	43,5	44,8
10 „	45,8	44,8
	46,1	

Mannit.
Reinstes Präparat von Kahlbaum.

Mannit	Mit Mannit	Ohne Mannit
100 mg	62,8	
	64,8	
10 „	62,3	62,6
	63,3	62,8
1 „	60,7	
	62,0	

Dulcit.
Kahlbaum.

Dulcit	Mit Dulcit	Ohne Dulcit
100 mg	61,0	
	66,0	62,2
10 „	61,2	62,6
	62,2	

Erythrit.
Das reine Präparat verdanke ich der Güte von Herrn Professor F. Ehrlich in Breslau.

Erythrit	Mit Erythrit	Ohne Erythrit
100 mg	50,4	
	50,5	51,8
10 „	49,4	52,5
	49,8	

Inosit.
Präparat von Neuberg.

Inosit	Mit Inosit	Ohne Inosit
100 mg	53,0	
	56,7	54,9
10 „	56,6	57,1
	59,4	

Äthylenglykol.
Kahlbaum.

Äthylenglykol	Mit Äthylenglykol	Ohne Äthylenglykol
1 ccm	59,7	
	61,7	50,2
0,1 „	56,7	
	58,5	

Propylenglykol.
Kahlbaum.

Propylenglykol	Mit Propylenglykol	Ohne Propylenglykol
1 ccm	32,5	64,7
	43,3	66,0
0,2 „	37,8	39,5
	38,1	39,5
0,1 „	69,9	64,7
	70,6	66,0
0,04 „	42,5	41,1
	43,5	42,4
0,01 „	52,2	47,0
	52,5	47,6
0,001 „	41,2	39,5
	41,8	39,5

Propylalkohol.
Reinstes Präparat von Kahlbaum.

Propylalkohol	Mit Propylalkohol	Ohne Propylalkohol
1 ccm	3,8	47,0
	3,8	47,6
0,1 „	36,9	41,1
	37,1	42,4
0,02 „	34,3	
	35,4	36,4
0,01 „	32,5	36,6
	33,6	

II.

Wenn wir nunmehr darangehen wollen, die Resultate zu gruppieren, so würde es naheliegen, einmal den Grad der Verdünnung anzugeben, bei dem die einzelne Substanz noch wirkt, ferner aber etwa in Prozenten die Steigerung der Wirkung in jedem Falle auszudrücken. Die Verhältnisse liegen aber so günstig, daß wir eine komplizierte Berechnung nicht nötig haben, vielmehr, wenn wir von wenigen Substanzen absehen, eine Gruppe stärkster Wirkung und die Gruppe der vollkommen unwirksamen Stoffe unterscheiden können. Um auch den Übergängen zwischen der Vollwirkung und der gänzlichen Unwirksamkeit Rechnung zu tragen, werden wir in einer Übersicht 4 Gruppen nebeneinanderstellen:

1. Hochwirksame Stoffe	2. Mäßig wirksame Stoffe	3. Spurweise wirksame Stoffe	4. Unwirksame Stoffe
d-Glucose,	d-Fructose,	Äthylenglykol,	d-Mannose,
d-Galaktose,	d-Arabinose,	Propylenglykol,	d-Sorbose,
Glycerin,	l-Arabinose.	Maltose.	Rhamnose,
d,l-Glycerinaldehyd,			Heptose,
Dioxyaceton,			Saccharose,
Brenztraubensäure,			Lactose,
Milchsäure.			Raffinose,
			α-Methylglucosid,
			β-Methylglucosid,
			Mannit,
			Dulcit,
			Sorbit,
			Erythrit,
			Inosit,
			Propylalkohol.

Das Ergebnis der tabellarischen Übersicht läßt sich ohne Schwierigkeit dahin zusammenfassen, daß von allen untersuchten Substanzen sich nur Hexosen und Substanzen der 3-Kohlenstoffreihe als hochwirksam erwiesen haben, neben denen nur noch in zweiter Linie die Pentosen zu nennen wären [1].

[1] Ergänzend sei bemerkt, daß auch Äthylalkohol, Aceton und Formaldehyd vollkommen unwirksam sind.

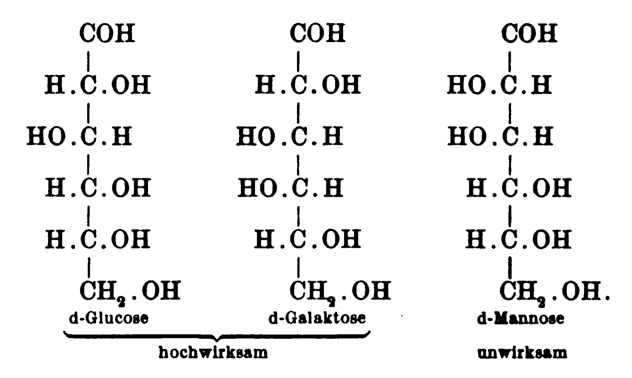
Fast vollständig scheiden die Polysaccharide aus, von denen nur die Maltose eine spurweise Wirkung erkennen läßt, während alle anderen vollkommen versagen. Dabei macht es keinen Unterschied, ob es sich um reduzierende oder nichtreduzierende Saccharide handelt, auch das Trisaccharid ist ebenso unwirksam wie die Disaccharide. Ich glaube, man kann aus diesem Befunde mit Sicherheit schließen, daß die Saccharide als solche überhaupt unwirksam sind, daß ferner unsere Bakterien keine saccharidspaltenden Fermente außer einer mäßig wirksamen Maltase besitzen. Die spurweise Wirkung der Maltose wäre dann zwanglos als Traubenzuckerwirkung aufzufassen. Dem Verhalten der Saccharide reiht sich die Wirkungslosigkeit der beiden α- und β-Methylglucoside an. Auch hier ist anzunehmen, daß die Glucoside als solche nicht für die Fermentbildung verwendbar sind, und außerdem können wir aus dem Resultat der Versuche ableiten, daß die Glucoside durch die Bakterien nicht gespalten werden. Denn sonst müßte die so feine Wirkung des Traubenzuckers sich bemerkbar machen. Auch die Alkohole (Mannit, Sorbit, Dulcit und Erythrit) kommen nicht in Betracht. Wir haben sie alle untersucht, weil ja die Möglichkeit bestand, daß die von ihnen, die dem Traubenzucker am nächsten stehen, ihn vertreten können; ferner war es nicht ausgeschlossen, daß die Alkohole der 6-Kohlenstoffreihe gegenüber dem Erythrit als Vertreter der 4-Kohlenstoffreihe würden bevorzugt werden.

Da die Alkohole negative Resultate ergaben, kann es uns nicht verwundern, daß der fernerstehende Inosit nicht zur Fermentbildung verwertbar ist.

Feinere Unterschiede offenbaren sich uns, wenn wir die Wirksamkeit der Monosen betrachten. Um zuerst die selteneren unter ihnen vorwegzunehmen, sei hervorgehoben, daß die untersuchte Heptose ohne Wirkung ist, während Tetrosen mir leider bisher nicht zur Verfügung standen.

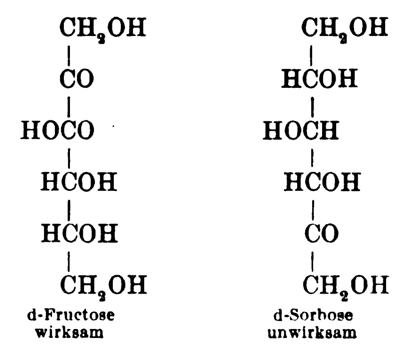
Sehr bemerkenswerte Unterschiede ergab die Untersuchung der Hexosen, von denen zunächst die Aldosen besprochen werden sollen. Gleich stark wirksam war die d-Glucose und die d-Galaktose, ohne jede Spur einer Wirkung die d-Mannose. Wahrscheinlich ist es zur Zeit noch nicht möglich, die Ursache dieses bemerkenswerten Verhaltens befriedigend aufzuklären. Als Grundlage für jede Vermutung über dieses Problem wollen wir die

bekannten Formeln, die **Emil Fischer** für diese Substanzen aufgestellt und mit reichem Beobachtungsmaterial belegt hat, hier einschalten. Besser als aus jeder Diskussion ist aus den Formeln zu erkennen, welche Hypothesen sich erörtern ließen:



Von Interesse ist, daß nach **Emil Fischer** die d-Mannose sterisch und dem parallel in ihrer Vergärbarkeit durch Hefe dem Traubenzucker nähersteht als die d-Galaktose, während bei der Fermentbildung gerade umgekehrt die Galaktose vollkommen den Traubenzucker vertreten kann und die Mannose ganz unbrauchbar ist.

Sehr lohnend erwies sich der Wirkungsvergleich der beiden Hexoketosen, der d-Fructose und der d-Sorbose, bei denen der Unterschied in der Stellung der Ketongruppe zu der der Aldehydgruppe der Aldosen entsprechenden Alkoholgruppe besteht.



Außerdem ist zu bemerken, daß auch die wirksame d-Fructose deutlich hinter der d-Glucose und der anderen wirksamen Hexo-Aldose, der d-Galaktose zurücksteht.

Von Pentosen wurde eine Methylpentose, nämlich die Rhamnose und die d- und l-Arabinose untersucht. Die Rhamnose ist unwirksam. Die beiden Arabinosen sind wirksam, wenn auch weniger als die Glucose. Interessant ist, daß die beiden stereoisomeren Arabinosen vollkommen gleich zur Fermentbildung geeignet sind.

Gruppiert sich die eine Abteilung der wirksamen Substanzen um den Traubenzucker, so können wir als zweite Gruppe die Substanzen der 3-Kohlenstoffreihe betrachten, die sich an das Glycerin anschließen.

CH_2OH	CH_2OH	CH_2OH	CH_3	CH_3
|	|	|	|	|
$CHOH$	CO	$CHOH$	CO	$CHOH$
|	|	|	|	|
CH_2OH	CH_2OH	CHO	$COOH$	$COOH$
Glycerin	Dioxyaceton	Glycerinaldehyd	Brenztraubensäure	Milchsäure

hochwirksam

Wir haben hier also hochwirksame Substanzen von Alkohol, Aldehyd- und Ketoncharakter, sämtlich an mehreren Kohlenstoffatomen substituiert, die nach verschiedenen Richtungen enge Verwandtschaft zeigen. Einmal bestehen zahlreiche Gründe für die Annahme, daß diese Substanzen aus Traubenzucker oder ihm nahestehenden Stoffen durch Spaltung entstehen können. Es wäre zu prüfen und ist sehr wahrscheinlich, daß unsere Mikroorganismen zu dieser Spaltung befähigt sind. Ferner können die Körper ohne Schwierigkeit ineinander übergehen.

Prinzipiell besteht zwar kein Grund dagegen, daß diese 3-Kohlenstoffkörper durch die Mikroorganismen in Hexosen übergeführt werden und diese Hexosen dann als Bausteine für die Fermentbildung verwandt werden. Naheliegender ist aber, falls nicht beide Gruppen direkt verwertet werden, daß die eigentlichen Bausteine die 3-Kohlenstoffsubstanzen sind. Dabei bleibt natürlich vorläufig noch offen, welche Substanz das Endprodukt ist, das direkt für die Bildung der Fermente verwertet wird.

Unser Befund hat, wenn er auch sowohl in der Fragestellung wie im Ergebnis vollkommen neu ist, doch insofern eine hypothetische Analogie, als auch für die Eiweißbildung

schon der Weg über die Milchsäure zum Alanin erörtert worden ist.

Kurz abmachen können wir, daß das Propylenglykol nur eine spurweise Wirkung hat, daß endlich das Äthylenglykol ebenfalls eine spurweise Wirkung hat. Es ist wahrscheinlich, daß diese Substanzen erst dadurch wirken, daß aus ihnen bis zu einem gewissen Grade die Fermentbildner entstehen können.

Die Durchsicht der Versuchsprotokolle lehrt, daß manche der in kleinen Mengen hochwirksamen Substanzen bei Anwendung stärkerer Konzentrationen die Bakterienfermentwirkung stark schädigte oder ganz hemmte. Diese Beobachtung geht uns hier direkt nichts an, sie ist aber methodisch wichtig, weil sie lehrt, daß man genau darauf achten muß, die richtigen Dosen heranzuziehen, wenn man nicht Irrtümern zum Opfer fallen will.

Die systematische Durchprüfung vieler Substanzen hat uns weitergeführt, als wir gelangt wären, wenn wir zufällig nur einige hochwirksame Substanzen ausfindig gemacht hätten. Denn wir können nun auch zeigen, welche Eigenschaften einer chemischen Substanz nicht dazu ausreichen, um sie als Baustein für das Ferment zu verwerten. Da wäre vieles hervorzuheben: Zunächst ist es nicht die Kohlenhydratnatur, nicht die Existenz reduzierender Aldehyd- und Ketongruppen, die entscheidend ist. Ebensowenig reicht es ganz allgemein aus, daß Alkoholgruppen vorhanden sind. Wohl aber darf man aus den Befunden schließen, daß die mehrfache Anwesenheit von Gruppen, die entweder Alkohol- oder Aceton- oder Aldehydgruppen sein können, notwendig ist.

Wichtig scheint uns eben vor allen Dingen, das das Ferment sich besonders gut aus Verbindungen bildet, die eine bestimmte Anzahl Kohlenstoffe enthalten. Das ist chemisch durchaus verständlich, weil die Synthese der entstehenden Substanzen sich unter Umständen so am direktesten vollzieht. Auch hat diese Erscheinung, wie aus den Beobachtungen Emil Fischers hervorgeht, eine Analogie in der Fermentforschung. Fischer fand nämlich, daß die Hefefermente besonders gut die Zucker der 3-, 6- und 9-Kohlenstoffreihe vergären. Man könnte sich vorstellen, daß diejenigen Teile des Fermentmoleküls, die mit den betreffenden Ketten am besten reagieren, auch imstande

sind, bei der Fermentbildung die gleichen Ketten an sich zu kuppeln.

III.

Es dürfte nützlich sein, nunmehr kurz zu erläutern, wie man sich von dem gewonnenen Standpunkte aus den weiteren Weg und das Endziel vorstellen kann. Gehen wir davon aus, daß wir in den Körpern der Glyceringruppe einen Baustein zum Aufbau eines Bakterienfermentes gesichert haben. Der nächste Schritt wird nun sein, die Zahl der notwendigen, chemisch bekannten Bausteine zu vermehren. Wir werden also die Bakterien auf Nährböden von chemisch bekannter Zusammensetzung sich vermehren lassen und studieren, wie man die Zusammensetzung im Sinne der Fermentbildung beeinflussen kann. Damit nähern wir uns einer Methode, die für verwandte, aber doch von der unsrigen verschiedenen Fragestellung bereits früher mit Erfolg benutzt worden ist. Man hat zweierlei schon eingehend studiert: Einmal im Anschluß an die grundlegenden Forschungen von Pasteur und Emil Fischer, welche chemische Konstitutionen durch Mikroorganismen verändert werden, ferner welche chemischen Stoffe das Wachstum der Mikroorganismen vermehren.

Wir stellen also für unsere weiteren Untersuchungen die präzise Frage, welche Stoffe muß man den Bakterien bieten, damit das Ferment von ihnen gebildet wird. Zu dieser Untersuchung gehört natürlich auch die Feststellung, was zur Fermentbildung entbehrlich ist.

Wenn nun die unentbehrlichen Stoffe aufgefunden sind, so sind diese Substanzen natürlich nicht im strengen Sinne als die Bausteine des Fermentes aufzufassen. Dazu ist die Sachlage innerhalb des Getriebes in einem Organismus zu verwickelt. Es können ja unter den Stoffen solche sein, die notwendig sind, damit der Organismus nicht zugrunde geht, ohne daß die betreffende Substanz direkt in das Fermentmolekül einzutreten braucht.

Aber das sind Einzelheiten, deren Diskussion vertagt werden kann, bis die experimentelle Grundlage eine breitere geworden ist.

Wenn man aber dann so weit gekommen sein wird, sich

ein Bild zu machen, aus welchen Substanzen der Organismus das Ferment aufbaut, so wird man wohl für die Synthese des Fermentes wieder ein Ferment verantwortlich machen, das aus den Bausteinen das von uns studierte Ferment aufbaut. Ob dieses Ferment von dem entstehenden verschieden ist oder ob sich da gleiches unter dem Einfluß von gleichem bildet, ist eine ferne Frage. Noch ferner aber ist der Ausblick, ob es nicht schließlich nach genauer Kenntnis der Bausteine des Fermentes dem Chemiker mit den Hilfsmitteln des Laboratoriums gelingen wird, Fermente synthetisch aus einfachen, chemischen Bestandteilen aufzubauen.

Angeborenes Fehlen beider Nebennieren und Morbus Addisoni

mit kritischen Betrachtungen zur Biochemie des Adrenalsystems.

Von

H. Strauß.

(Aus der inneren Abteilung des Jüdischen Krankenhauses zu Berlin.)

(Eingegangen am 10. November 1916.)

Ein angeborenes Fehlen beider Nebennieren ist überaus selten. In der mir zugänglichen Literatur habe ich nur 5 solche Fälle feststellen können (Martini[1]), Averbeck[2]), Kent Spender[3]), Fletscher[4]), E. Schet[5]). Selbst einseitiger Mangel der Nebenniere wird von Biedl[6]) als außerordentlich selten bezeichnet. Aus diesem Grunde, noch mehr aber mit Rücksicht auf einige die Klinik und die Biochemie interessierende Fragen, besitzt der folgende von mir jüngst beobachtete Fall ein besonderes Interesse.

Bei der 25 jährigen Lageristin G. A., die am 7. September d. Js. im Jüdischen Krankenhaus aufgenommen wurde und dort am 12. Oktober verstarb, ergab die Anamnese folgendes: Der Vater starb mit 42 Jahren an Zuckerkrankheit und Herzschwäche, die Mutter sowie ein Bruder leben und sind gesund. Als Kind litt Patientin an Masern und Scharlach. Später soll sie häufig über allgemeine Schlaffheit geklagt haben. Seit $^1/_2$ Jahr fühlte sich Patientin matt. Seit dieser Zeit bemerkte sie, daß sie im Gesicht, an der Brust und auf dem Handrücken braun

---

1) Martini, Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. **43**, 1052/53, 1856.

2) Averbeck, Die Addisonsche Krankheit. Erlangen 1869.

3) Kent Spender, zit. nach Brault, Traité de med. von Charcot, Bouchard und Brissand, **1**, 1893.

4) Fletscher, zit. nach Averbeck, l. c.

5) E. Schet, zit. nach Burger, Die Nebennieren uud der Morbus Addisoni, Berlin 1883.

6) A. Biedl, Innere Sekretion, Berlin und Wien, Urban u. Schwarzenberg 1910.

wurde, sowie daß dunkle Flecken auf der Zunge, am Zahnfleisch und an den Lippen auftraten. Der Appetit sei seit einigen Monaten schlechter geworden. Seit 4 Wochen klagt Patientin öfters auch über Kopfschmerzen sowie über Schmerzen im Kreuz und zwischen den Schulterblättern, seit einiger Zeit auch über Übelkeit und Brechreiz. Der Schlaf ist gut, der Appetit mäßig, der Stuhl ohne Besonderheit. Seit 1/2 Jahr muß Patientin öfters Urin lassen, auch nachts. Menses früher regelmäßig. Die letzten beiden Male sehr starke Schmerzen beim Unwohlsein. In 3/4 Jahren hat Patientin 15 Pfund abgenommen. Das derzeitige Gewicht beträgt 96 Pfund.

Status praesens: Zartes schlankes Mädchen von mäßigem Ernährungs- und Kräftezustand, Knochenbau normal, Fettpolster ausreichend. Gesicht, Brust, Arme und Handrücken sind sehr stark braungrau pigmentiert. Auf der Zunge, unter der Zunge am Zahnfleisch, auf der Innenseite der Lippen und an der Wangenschleimhaut sind dunkle, fast schwarz gefärbte, Flecken von verschiedener Größe. Der Rachen ist ohne Besonderheit. Ödeme sind nicht vorhanden.

Der Thorax ist schlank und symmetrisch. Atmung ohne Besonderes. Perkussion: untere Lungengrenze vorn: 6. Rippe; hinten: 12. Brustwirbel. Die Grenzen sind gut verschieblich. Über beiden Lungenspitzen hinten leicht verkürzter Schall. Über allen anderen Teilen sonorer Lungenschall. Im Bereiche der Abkürzung hört man etwas verlängertes Exspirium, sonst überall reines Vesiculäratmen. Sputum nicht vorhanden.

Der Herzspitzenstoß ist ein wenig andrängend, im 5. I.-C.-Raum, einfingerbreit innerhalb der Mammillarlinie, die Herzaktion ist regelmäßig. Herzgrenzen: normal.

Die Herztöne sind leise, aber rein, der zweite Pulmonalton ist etwas akzentuiert. Die Pulszahl beträgt 72, der Blutdruck 90/65 mm Hg.

Abdomen ist weich, die Abdominalorgane sind ohne besonderen Befund. Ein Druckpunkt findet sich in der Nabelhorizontale und etwas darüber handtellerbreit links vom Nabel.

Der Urin ist hellgelb, klar. Das spezifische Gewicht beträgt 1014. Im Sediment finden sich wenige Epithelien und Leukocyten.

Nervensystem ohne auffälligen Befund.

Therapie: Glandulae suprarenales, Solarson, Bäder.

8. IX. 16. Blutstatus: 80% Hämoglobin, 4810000 Erythrocyten, 10600 Leukocyten, neutrophile, 38% kleine Lymphocyten 7%, große Lymphocyten 32%, große mononucleäre 10%, 6% eosinophile.

9. IX. 16. Magenausheberung nach Probefrühstück. Menge 120 ccm, Verdauungsgrad ziemlich schlecht, Schichtungsquot. 80/120, Reaktion sauer, freie H. Cl. —, Gesamtacid. 18. Mikroskopisch ohne besonderen Befund. Spur Schleim mit reichlichen Epithelien. Wenig Leukocyten und Erythrocyten.

13. IX. Pat. klagt seit 2 Tagen über Schmerzen im rechten Ohr. Die Ohrmuschel ist bei vorsichtigstem Anfassen druckempfindlich. Keine Temperatursteigerung.

14. IX. Die Ohrenschmerzen sind stärker geworden. Der äußere Gehörgang ist angeschwollen. Das Trommelfell ist ziemlich stark gerötet. Der Proc. mastoideus ist sehr stark druckempfindlich. Pulserhöhung (112), aber keine Temperatursteigerung. Patientin fühlt sich sehr matt, klagt jetzt öfters über Übelkeit und Kreuzschmerzen.

Prüfung des vegetativen Nervensystems: Aschnersches Bulbusdruckphänomen: Pulsfrequenz vor dem Versuch 128, nach dem Versuch 116. Czermakscher Druckversuch: vor dem Druck auf den Vagus 128 Pulsfrequenz, nach dem Versuch 106. Erbensches Symptom: vor dem Versuch 124 Pulsfrequenz, nach dem Versuch 108. Dermographismus: zuerst weiße Streifen, die allmählich wieder Hautfarbe annehmen, mit urticariaähnlichen Quaddeln. Löwische Adrenalinreaktion: negativ.

20. IX. Die Otitis externa heilt allmählich ab, doch bleibt der Puls dauernd hoch. Patientin hat jetzt eine leichte Angina tonsillaris.

23. IX. Temperatur 39,2.

28. IX. Patientin fühlt sich wieder ganz wohl, Temperatur ist abgesunken, Appetit ist besser. Übelkeit und Kreuzschmerzen sind augenblicklich nicht vorhanden.

6. X. Patientin klagt seit einigen Tagen wieder über Übelkeit und starke Kreuzschmerzen. Appetit ist schlechter, Patientin nimmt stetig ab. Blutdruck 80 : 50. Nässendes Ekzem an der rechten Ohrmuschel, mit Eiterkrusten bedeckt.

8. X. Patientin ist sehr matt, sieht etwas verfallen aus, nimmt nur sehr ungenügend Nahrung. Der Puls ist sehr klein und weich. Die hinteren Cervicaldrüsen rechts sind geschwollen, hart und empfindlich. Puls in der letzten Zeit stets gegen 100.

10. X. In der letzten Nacht kollabierte die Patientin. Der Puls wurde fast unfühlbar, die Gliedmaßen waren kühl. Es besteht großes Angstgefühl und motorische Unruhe. Patientin erhält Adrenalininjektionen, wodurch der Puls nur wenig beeinflußt wird. Sie ist auch heute noch außerordentlich unruhig, erbricht häufig grüne wäßrige Flüssigkeit und zeigt eine Temperatur von über 39°. Die Patientin erhält Excitantien, Narkotica und Tropfklystiere. Die rechten hinteren Cervicaldrüsen sind sehr stark geschwollen, die Umgebung ist infiltriert.

12. X. Gestern tagsüber große Unruhe, viel Erbrechen, weicher fast unfühlbarer Puls, nachts tritt Somnolenz ein, und heute früh erfolgt unter den Zeichen zunehmender Kreislaufsschwäche der Exitus.

Sektionsbefund.

Mittelgroße Leiche eines zart gebauten, schlanken jungen Mädchens mit mäßigem subcutanem Fettpolster. Hautfarbe ist eigentümlich bräunlich am ganzen Körper, besonders auffallend im Gesicht, Brustwarzen sehr dunkel pigmentiert. In der Bauchhöhle keine freie Flüssigkeit. Därme vom Netz bedeckt, zusammengefallen. Leber ist nicht sichtbar, ihr unterer Rand ist 4 cm oberhalb des rechten Sternalrandes. Die Pleurahöhlen sind beiderseits frei, im vorderen Mediastinum fällt sogleich

die nicht rückgebildete große Thymus auf. Sie besteht aus zwei großen, ziemlich dicken Lappen, die bis etwa zur Mitte des Sternums herabreichen. Herzbeutel ohne Befund. Herz ist erheblich kleiner als die Faust der Leiche, von sehr schlaffer Konsistenz, Herzhöhlen leicht dilatiert, Muskulatur sehr schlaff, von rötlich brauner Farbe. Klappenapparat zart. Am Anfangsteil der Aorta und am Endokard unterhalb der Aortenklappen einzelne verfettete Herde. Die Aorta ist im ganzen Verlauf schmal, Umfang direkt oberhalb der Aortenklappen $5^1/_2$ cm, oberhalb des Durchtritts durch das Zwerchfell 4,2 cm, oberhalb der Bifurkation 2,9 cm. Die Wand erscheint etwas dünn. Die Intima weist im ganzen Verlaufe ziemlich erhebliche Verfettungen auf. Lungen sind klein, zurückgesunken, blutreich, überall lufthaltig. An den Spitzen kein abnormer Befund. Glandula thyreoidea von normaler Größe. Milz ganz leicht vergrößert, dunkelblaurot. Auf dem Durchschnitt die Pulpa bräunlich, leicht abstreifbar. Die Leber erscheint etwas klein, ist von fester Konsistenz, sehr blutreich. Auf dem Durchschnitt graubraun mit deutlicher Läppchenzeichnung. Die Nieren sind von normaler Größe, ziemlich derber Konsistenz, dunkelblaurot mit deutlich fötaler Lappung, die aber nur 1 cm tief reicht. Nierenzeichnung deutlich. Die Nebennieren sind beiderseits nicht auffindbar. Magen: Schleimhaut dünn mit etwas Schleim bedeckt, einzelne hämorrhagische Punkte. Darm: auf der Schleimhaut in den unteren Teilen des Rectums finden sich wenige, etwa erbsengroße braune Pigmentflecke, sowie mehrere oberflächliche Hämorrhagien und stark ausgeprägte Follikel. Eine über haselnußgroße, verkalkte Drüse im Mesenterium. Genitalapparat: Uterus von normaler Größe, Ovarien ziemlich groß, mit oberflächlichen Narben.

Im vorliegenden Fall handelt es sich um einen klassischen Fall der Addisonschen Krankheit. Die Sektion ergab bei ihm ein absolutes Fehlen beider Nebennieren. Außerdem deckte die Sektion einen ausgesprochenen Status thymico-lymphaticus bzw. Status hypoplasticus mit Aorta angusta auf. Von Einzelbefunden des Morbus Addisoni war besonders bemerkenswert das Vorhandensein typischer Flecken auf der Rectalschleimhaut.

Das Interesse des vorliegenden Falls liegt vorwiegend nach zwei Richtungen:

1. In den Beziehungen zwischen dem Fehlen der Nebennieren und der Addisonschen Krankheit.

2. In den Beziehungen zwischen der Addisonschen Krankheit und dem Status thymico-hypoplasticus.

Wir wissen aus Experimenten, daß Tiere nach experimenteller Entfernung beider Nebennieren meist bald zugrunde gehen. Ausnahmen kommen nur unter besonderen Umständen vor.

v. Neußer und Wiesel[1]) sprechen direkt aus, „daß alle Angaben über völligen Mangel der Nebennieren bei im späteren Leben Verstorbenen nicht richtig sein können, da eben die Nebennieren unbedingt lebenswichtige Organe darstellen." Es muß also außerhalb der Nebennieren im Organismus eine Substanz vorhanden sein, die gleiche Funktionen zu erfüllen imstande ist, wie die Nebennieren. Man hat von akzessorischen Nebennieren bzw. Beinebennieren, Beizwischennieren und von chromaffiner Substanz gesprochen. Vor allem hat sich Wiesel um die Erforschung der letzteren besondere Verdienste erworben. v. Neußer und Wiesel behaupten in bezug auf die Verteilung des chromaffinen Gewebes, daß die Gesamtmasse der außerhalb der Nebennieren lagernden Teile sicherlich nicht geringer ist, als der in der Nebenniere vorhandene Anteil. Da aber auch Teile der Nebennierenrinde außerhalb der Nebennierenkörper zu finden sind, so darf man wohl ganz allgemein je nach ihrer Lagerung im Nebennierenorgan oder außerhalb desselben zwei Formen von Nebennierensubstanz unterscheiden: a) diejenige Masse, die in Form der beiden Organe zusammengefaßt ist = enepinephrale oder glanduläre Substanz, b) den Rest, der außerhalb des Organs im Körper zerstreut ist = exepinephrale oder extraglanduläre Substanz. Beim höheren Wirbeltiere ist die Nebenniere nur ein Teil eines Systems, das ursprünglich den ganzen Körper von den Kiemen bis zum Schwanz durchzog[2]). Es liegt deshalb in Fällen, in denen Fragen der Nebennierenfunktion interessieren, die Aufgabe vor, nicht die Nebennieren allein, sondern das Gesamtsystem ins Auge zu fassen. Derartige Untersuchungen sind aber technisch sehr schwierig und waren in unserem Fall aus äußeren Gründen nicht durchzuführen. Trotzdem gibt unser Fall gerade nach der vorliegenden Richtung zu interessanten Betrachtungen Anlaß. Es muß angenommen werden, daß in unserem Fall und wohl auch in den wenigen anderen ähnlichen Fällen extraglanduläre Nebennierensubstanz im Körper lange Zeit in ausreichender Form vorhanden gewesen sein muß. Dies darf man wenigstens aus der Tatsache schließen, daß die

[1]) v. Neußer und Wiesel, Die Erkrankungen der Nebennieren. 2. Aufl. Wien, A. Hölder 1910.

[2]) v. Neußer und Wiesel, l. c. S. 9.

typischen Zeichen der Addisonschen Krankheit bei unserer Patientin erst $^1/_2$ Jahr vor ihrem Tode einsetzten. Prodrome waren allerdings in Form allgemeiner Adynamie schon seit längerer Zeit vorhanden. Mit der Annahme des Vorhandenseins einer gerade noch ausreichenden, aber nicht übermäßigen Menge von extraglandulär gelagerter Nebennierensubstanz im Körper der Patientin läßt sich wenigstens die Annahme gut vereinen. daß gerade wegen des Fehlens eines Überschusses an funktionierender Substanz eine bestimmte Noxe besonders leicht zu den Erscheinungen des typischen Morbus Addisoni führen konnte.

Auf Einzelheiten bezüglich der Entwicklung und der Verteilung von Nebennierensubstanz im Körper einzugehen, würde hier zu weit führen. Es erscheint dies auch aus dem Grunde nicht nötig, weil in der Monographie von v. Neußer und Wiesel[1]) sowie in der Monographie von Bittorf[2]) und schließlich in dem Buche von Biedl[3]) ausführliche Schilderungen über diese Frage sowie über die besondere Bedeutung der Nebennierenrinde und des Nebennierenmarks für die vorliegenden Fragen gegeben sind. Als eigene Auffassung möchte ich hier nur die Vermutung äußern, daß bei den einzelnen Personen das Verhältnis des enepinephralen glandulären und des exepinephral gelagerten extraglandulären Teiles der Nebennierensubstanz nicht ganz gleichmäßig sein dürfte. Denn wenn stets die Menge der exepinephral gelagerten Nebennierensubstanz zur Aufrechterhaltung der Nebennierenfunktion genügen würde, so wären diejenigen Fälle von Morbus Addisoni schwer zu erklären, bei denen die beiden Nebennierenorgane zerstört, aber der im Körper zerstreut gelagerte Nebennierenrest erhalten geblieben ist. Meist handelt es sich ja in solchen Fällen um Nebennierentuberkulose, und ich selbst habe in den letzten Jahren zwei typische Fälle von Morbus Addisoni in Beobachtung gehabt, bei denen die in genauester Weise ausgeführte Autopsie eine Solitärtuberkulose an den Nebennieren ohne Zeichen von florider Tuberkulose am übrigen Körper nachzuweisen vermochte.

---

[1]) l. c.

[2]) Bittorf, Die Pathologie der Nebennieren und der Morbus Addisoni. Jena, Fischer 1908.

[3]) Biedl, l. c.

Den ersten Fall hatte ich jüngst Gelegenheit, als Fachbeirat in einem hiesigen Reservelazarett zu beobachten. Der betr. Patient war 24 Jahre alt. Der Vater war an Lungenschwindsucht gestorben. Patient litt früher und auch während der aktiven Dienstzeit an häufigen Mandelentzündungen und Influenza. Im Dezember 1914 erkrankte er an Durchfall und Magendruck. Seither bestand allgemeine Schwäche und Durchfall. Patient erholte sich jedoch wieder so weit, daß er wieder garnisonverwendungsfähig wurde. Seit etwa 3 Monaten klagt er wieder über Mandelentzündung und Influenza und Schwäche. In den letzten zwei Jahren ist das Gewicht um 45 Pfund gesunken.

Bei der objektiven Untersuchung zeigte der mittelgroße, mäßig gut genährte Patient eine typisch rauchgraue Pigmentierung des Körpers. Die Schleimhäute waren blaß, an der Wangenschleimhaut waren blaugraue Flecken, die Mandeln waren hypertrophisch, an Herz und Lungen war nichts Besonderes festzustellen. Auch die Abdominalorgane zeigten nichts Besonderes. Der Mageninhalt war nach Probefrühstück ziemlich gut verdaut, zeigte freie Salzsäure 32, Gesamtsäure 56. Die Röntgenuntersuchung des Magens ergab normale Form und Lage. Der Tonus war gut, die Peristaltik und Entleerung gering, nach 2 Stunden war noch ein Rest im Magen. Die Lungen zeigten im Röntgenbild eine Verstärkung der Hilus-Zeichnung. Die Blutuntersuchung ergab 87% Hmgl., 4600000 rote Blutkörperchen, 5300 weiße Blutkörperchen, davon neutrophile Zellen 47%, große Lymphocyten 7%, kleine Lymphocyten 29%, Eosinophile 7%, Basophile 3%, Übergangszellen 3%. Unter zunehmender Schwäche, mehrfachem Nasenbluten, Erbrechen trat schließlich unter den Zeichen der Herzschwäche der Tod ein.

Bei der Autopsie ergab sich auch hier ein kleines Herz. Die Schilddrüse war klein, dunkelblaurot, die Thymusdrüse auffällig groß = 8 cm lang, 4 cm breit, 1,5 cm dick, graurot, deutlich gelappt. Die Brustschlagader war zart ohne Veränderung. Die linke Nebenniere bildete eine äußerst derbe, 4½ cm lange, 2½ cm breite, 1,5 cm dicke Wulst am oberen Nierenpol. Bei dem Durchschnitt zeigte sich eine etwas derbe, bindegewebsartige Kapsel von mehreren Millimetern Dicke und im Innern eine käsige Masse. Die rechte Nebenniere war etwas größer als die linke, sonst von gleicher Beschaffenheit. An den Lungen kein auffälliger Befund. Die Schleimhaut des Mastdarms war blaßgrau, etwas gekörnt.

Den zweiten Fall hatte ich vor etwa 3 Jahren auf meiner Abteilung im Jüdischen Krankenhaus in Beobachtung. Er betraf einen 44jährigen Lithographen, der vor 26 Jahren eine Lues durchgemacht hatte und in der Zwischenzeit 10 Inunktionskuren absolviert hatte. Ein Jahr vor seiner Aufnahme ins Krankenhaus erkrankte Patient an Übelkeit und Erbrechen. Es stellte sich alsbald Durchfall ein, und seit ½ Jahr bemerkte er einen bräunlichen Farbenton auf der Haut. Einen Monat vor der Aufnahme mußte er wegen allgemeiner Schwäche seinen Beruf aufgeben. Er hatte im ganzen 40 bis 45 Pfund abgenommen.

Der objektive Befund zeigte einen mittelgroßen Patienten von

mäßigem Ernährungszustand mit charakteristischer Pigmentierung. Am Gaumen und an der Wangenschleimhaut waren typische Pigmentflecken vorhanden. Die Untersuchung der Thoraxorgane sowie des Leibes ergab keinen besonderen Befund. Der Blutdruck betrug 98 mm Quecksilber. Der Urin war frei von Eiweiß und Zucker. Die Untersuchung des Blutes ergab 76% Hmgl., 5600000 Erythrocyten, 8700 Leukocyten, 44% neutrophile Zellen, 41% Lymphocyten, 13% Eosinophile, 2% Mastzellen. Die Untersuchung des Stuhles mittels Probedarmdiät ergab eine geringe Vermehrung des Neutralfettes. Nach subcutaner Einspritzung von zweimal 1 mg Adrenalin innerhalb 1 Stunde erfolgte keine Zuckerausscheidung. Das Löwische Augenphänomen war nicht vorhanden. Die Wassermann-Probe fiel negativ aus. Patient zeigte am 6. Tage seines Aufenthaltes einen Zustand schwerster Herzschwäche (Blutdruck: 60 mm Hg).

Die Autopsie ergab an der einen Lungenspitze einen längst abgeheilten, vollkommen verkapselten Tuberkulosenherd. Die beiden Nebennieren waren von einer weißen käsigen Masse erfüllt.

Andererseits gibt es auch Fälle, bei denen trotz Zerstörung beider Organe keinerlei klinische Symptome auf Morbus Addisoni hinweisen. Ich selbst habe zwei solcher Fälle in Erinnerung, und es betonen auch v. Neußer und Wiesel das Vorkommen solcher Fälle. Demgegenüber weisen diese Autoren auch auf Fälle von Addisonscher Krankheit hin[1]), bei denen die Nebennieren völlig intakt gefunden wurden. All dies weist nicht nur auf die große Bedeutung, sondern auch auf die individuell verschiedenartige Größe des extraglandulär gelagerten Teils von Nebennierensubstanz hin und läßt sogar in den Fällen von angeborenem doppelseitigem Nebennierenmangel eventuell eine Hypertrophie bzw. Hyperplasie des extraglandulär gelegenen Anteils vermuten.

In unserem Fall stellt das doppelseitige Fehlen der Nebennieren nur einen Teil von Entwicklungshemmungen dar. Es waren aber in unserem Fall keinerlei klinische Zeichen vorhanden, die auf eine Störung der Gehirnentwicklung hätten schließen lassen, welch letztere nach v. Neußer und Wiesel stets vorhanden sein soll, wenn ein Fehlen beider Nebennieren vorliegt. Dagegen waren Entwicklungshemmungen anderer Art in mehrfacher Anzahl vorhanden. Dieselben traten klinisch zunächst in Form eines typischen Habitus asthenicus zutage, den ich hier anführe, weil ich als seine Ursache seinerzeit eine

[1]) v. Neußer und Wiesel, l. c. S. 112.

Entwicklungshemmung angesprochen hatte[1]). Ferner war im Blutbild eine auffällige Vermehrung der mononucleären Zellen (49 %) zu konstatieren, wie man sie bei konstitutionellen Erkrankungen, insbesondere auf dem Boden endokriner Störungen — so u. a. auch bei Morbus Basedowi [Kocher[2]), Kaufmann[3]), eigene Beobachtungen[4])] — anzutreffen pflegt. Außerdem war eine Neigung zu Anginen vorhanden, die auf eine besondere Anfälligkeit des lymphatischen Gewebes hinwies. Anatomisch fand sich weiterhin eine sehr große Thymus, eine enge Aorta (Maße oberhalb der Aortenklappen 5½ cm, oberhalb des Durchtritts durch das Zwerchfell 4,2 cm, oberhalb der Bifurkation 2,9 cm) mit auffälliger Dünnheit der Wand und verfetteten Stellen an der Intima. Schließlich zeigten die Nieren noch eine ausgesprochene renkuläre Zeichnung. Die hier genannten Zeichen des Status thymico-lymphaticus, die ein besonderes Interesse deshalb besitzen, weil die Beziehungen zwischen Status thymico-lymphaticus bzw. Status hypoplasticus und Morbus Addisoni nach Beobachtungen von Wiesel, Hedinger[5]), Hart[6]) u. a. überaus häufige und enge sind. In unserem Fall zeigten sie sich u. a. auch in der Form, daß das lymphatische Gewebe des Darmes besonders stark entwickelt war. Denn es traten auch die Follikel in der Rectalschleimhaut auffällig stark zutage, und es war — das sei hier besonders bemerkt, da ich bisher in der Literatur hierüber nichts vorfinden konnte — auch auf der Rectalschleimhaut die gleiche eigentümliche Pigmentation zu sehen, wie in der Mundhöhle.

Wie Wiesel u. a. mit Recht betonen, haben diese Beziehungen nicht nur ein allgemein-pathologisches, sondern auch ein diagnostisches Interesse, insofern, als die Feststellung bestimmter Stigmata von Entwicklungshemmung die Unterscheidung der Fälle von Morbus Addisoni auf konstitutioneller Basis von den anders entstandenen Formen

---

1) H. Strauß, Berl. klin. Wochenschr. **1910**, Nr. 5 und a. a. O.

2) Kocher, Arch. f. klin. Med. **87**, 1908.

3) J. Kaufmann, Mitt. aus den Grenzgeb. **28**, 1915.

4) H. Strauß, Arch. f. Verdauungskrankh. **22**, H. 3, 1916.

5) Hedinger, zit. nach v. Neußer und Wiesel.

6) Hart, Wiener klin. Wochenschr. **21**, 1908; Centralbl. f. d. Grenzgebiete **12**, **1909**. Med. Klinik **1914**, Nr. 14 und a. a. O.

zu erleichtern vermag. Leider sind aber die konstitutionellen Stigmata nicht immer so ausgeprägt bzw. in solcher Anzahl vorhanden, daß die Diagnose einer minderwertigen Konstitution in jedem einzelnen Falle ohne weiteres gelingt. Wie ich schon an anderer Stelle[1]) genauer ausgeführt habe, gilt dies insbesondere auch für die klinische Feststellung der engen Aorta. Immerhin wird man bei ausreichendem Suchen doch in sehr vielen Fällen in der Lage sein, klinisch eine genügende Anzahl von Kriterien zu gewinnen, um einen Status lymphaticus bzw. hypoplasticus mit einem mehr oder weniger großen Grad von Sicherheit festzustellen. Ich lege auf diese Feststellung besonderen Wert, weil ich ähnlich wie Stoerk[2]) u. a. enge Beziehungen zwischen Status lymphaticus und Aorta angusta annehme und diese auf dem gemeinsamen Boden des Infantilismus suche[3]).

Die Beziehungen zwischen Status lymphaticus und Morbus Addisoni sind aber auch vom genetischen Standpunkt von großem Interesse, insofern, als ein primär minderwertiges Adrenalsystem nicht bloß beim Hinzutritt einer geringfügigen Funktionshemmung versagen kann — in unserem Fall waren vielleicht schon physiologische Rückbildungsvorgänge in der Pubertät und Post-Pubertät nach dieser Richtung hin wirksam —, sondern auch gegenüber Erkrankungen eine geringere Widerstandskraft gegen exogene Noxen zeigt, als dies bei robust angelegten Personen der Fall ist. Eine solche Anfälligkeit des Adrenalsystems konstitutionell minderwertiger Personen dürfte wohl schon an der Erscheinung schuld sein, daß unter den Fällen von Morbus Addisoni eine nicht geringe Anzahl von Solitärerkrankungen der Nebennieren an Tuberkulose zu finden ist. Denn so sehr auch der in solchen Fällen häufig vorhandene Habitus asthenicus, der ja mit dem Habitus phthisicus in seinen Grundzügen übereinstimmt, das Zustandekommen einer Tuberkulose erleichtern vermag, so ist doch bei Fällen von Solitärtuberkulose der Nebennieren noch eine lokale Anfälligkeit des Organs anzunehmen. Man könnte sogar hier die Frage aufwerfen, ob nicht die bei zahlreichen Trägern des Habitus

---

[1]) H. Strauß, Med. Klinik **1916**, Nr. 16.

[2]) Stoerk, Zur Klinik des Lymphatismus. Berlin und Wien 1913. Urban & Schwarzenberg.

[3]) H. Strauß, Med. Klinik **1916**, Nr. 16.

asthenicus auffällige Asthenie an sich durch eine Insuffizienz des Adrenalsystems bedingt sein mag. In gleicher Weise läßt sich über die Frage diskutieren, ob nicht manche Fälle von rauchgrauer Hautfärbung bei Phthisikern, bei denen die Nebennieren makroskopisch keine Veränderung erkennen lassen — ich selbst habe mehrere solcher Fälle beobachtet, bei denen ich die Möglichkeit einer „forme fruste“ von Morbus Addisoni bzw. von „Addisonoid“ in Erwägung gezogen hatte — durch funktionelle Veränderungen an den Nebennieren zustande gekommen sein mögen. Die Entstehung der Pigmentierung ist allerdings noch recht unklar, und es findet ihre Erforschung dadurch besondere Schwierigkeiten, daß sie im Tierexperiment fast nie auftritt. Nach v. Neußer und Wiesel[1]) ist am ehesten anzunehmen, daß „die Pigmentbildung unter Vermittlung der Gefäßnerven, also des Sympathicus und unter Vermittlung der Chromatophoren vor sich geht, wobei die Frage, woher das in den Chromatophoren befindliche Pigment stammt (aus dem Blute?), noch immer als offen zu betrachten ist“. Das Pigment ist eisenfrei, und Bittorf[2]) beobachtete, daß gewöhnlich nur die unteren Epithelien pigmenthaltig sind. Schmorl[3]) hat bei Morbus Addisoni Pigment aber auch in den peripherischen Lymphdrüsen nachweisen können. Er deutet diesen Befund als Verschleppung des körnigen Farbstoffes aus der Haut in die peripherischen Lymphgefäße und sieht dabei ein Analogon zu der bei Negern und Mulatten beobachteten Pigmentierung der von der Haut abhängigen Lymphdrüsen. v. Neußer und Wiesel[4]) betonen außerdem noch die große Ähnlichkeit zwischen der Pigmentierung bei Morbus Addisoni und der Arsenmelanose und stellen den Sympathicus in den Mittelpunkt ihrer Betrachtungen, indem sie darauf hinweisen, daß das Arsenik auch ein Sympathicusgift darstellt. Unter Berücksichtigung des Momentes, daß das Adrenalin ähnlich wirkt wie die Reizung der sympathischen Fasern und daß bei Morbus Addisoni der Adrenalingehalt des Blutes sehr reduziert ist, betrachten sie „die Pigmentierung bei Morbus Addisoni

---

[1]) v. Neußer und Wiesel, l. c.

[2]) Bittorf, l. c.

[3]) Schmorl, Beiträge zur patholog. Anat. u. zur allg. Pathol. 8, 1891.

[4]) v. Neußer und Wiesel, l. c.

als eine Innervationsstörung im Bereiche des Sympathicus, wobei noch zu erwägen wäre, inwieweit der gestörte Adrenalinstoffwechsel als Ursache der Pigmentierung in Betracht käme". Nach v. Neußer und Wiesel sprechen weder die Tierexperimente noch die Beobachtungen am Krankenbett dafür, daß die Nebennieren als solche etwas mit der Pigmentbildung zu tun haben, sondern es können erst Schädigungen des Sympathicus evtl. der mit Sympathicuslähmung vergleichbare Adrenalinmangel, die sekundär auftreten, beim Morbus Addisoni ebenso wie bei anderen Stoffwechselkrankheiten abnorme Pigmentierung hervorrufen. Trotzdem erscheint es möglich, daß das Adrenalin bei der Entstehung der abnormen Pigmentierung noch eine andere Rolle spielen kann. Man kann hieran wenigstens auf Grund sehr interessanter Untersuchungen denken, die vor einer Reihe von Jahren gerade aus dem Institut des Jubilars, dem diese Festschrift gewidmet ist, hervorgegangen sind. Vor etwa 10 Jahren hat J. Orth[1]) in der Berliner medizinischen Gesellschaft über einen eigenartigen Fall von Melanose der Nebenniere mit Metastasen in Lymphdrüsen und Gehirn berichtet, bei welch letzteren die Zellen und Zellenanordnung durchaus an den Bau der Nebennierenrinde erinnerten. Aus den betreffenden Tumoren konnte C. Neuberg[2]) eine Enzymlösung gewinnen, die Adrenalin sowie p-Oxyphenyläthylamin schwarz färbte, während sie auf Tyrosin ohne erkennbare Einwirkung blieb. Neuberg gelangte zu der Annahme, daß wohl von den Metastasen des Nebennierentumors weiter produziertes Adrenalin durch ein in diesen Tumoren wirksames Enzym zu Pigment umgebildet wurde. Daß es sich hier um ein besonderes Ferment handelte, ergab sich daraus, daß Extrakte aus Melanosarkomen anderer Herkunft keine Adrenalinspaltung erzeugten, und daß das untersuchte Ferment zwar auf Tyrosin keine spaltende Wirkung äußerte, wohl aber eine zwar nicht gleiche, aber doch ähnliche Wirkung auf das Tryptophan (Indolaminopropionsäure) entfaltete. Auch C. Davidsohn[3]) hat über eine

---

[1]) J. Orth, Berl. klin. Wochenschr. **1906**, Nr. 43.

[2]) C. Neuberg, diese Zeitschr. **8**, 1908 und Zeitschr. f. Krebsforschung **8**, 1909-

[3]) C. Davidsohn, Verhandlungen der Deutschen patholog. Gesellschaft **1909**, 13. Tagung. Fischer, Jena.

Beobachtung eines Melanosarkoms der Nebennieren berichtet, dessen Extrakt nach 24 stündigem Stehen an der Luft, ähnlich wie Adrenalin, eine rosarote Farbe zeigte, sowie auch eine Blutdrucksteigerung bei Kaninchen erzeugte und am Froschauge die Pupille erweiterte. Bemerkenswert war, daß in diesem Falle von allerdings doppelseitigem Nebennierensarkom „die Symptome der Addisonschen Krankheit, besonders auch die Braunfärbung der Rachenschleimhaut“ ausgeprägt vorhanden gewesen sind. Die hier geschilderten Feststellungen verdienen besondere Beachtung, wenn man bedenkt, daß das Adrenalin nach W. L. Halle[1]) im Tierkörper möglicherweise aus Tyrosin über die Stufe von p-Oxyphenyläthylamin entsteht. Ferner kann man auf Grund der vorstehend erörterten Untersuchungen m. E. daran denken, daß in dem Adrenalin die Muttersubstanz für das Pigment gegeben ist, das die abnorme Färbung bei Morbus Addisoni erzeugt. Man kann dabei entweder annehmen, daß ein Adrenalin spaltendes Ferment eine „Epinephrase“ nur an gewissen Stellen des Körpers vorhanden oder wenigstens wirksam ist, oder vermuten, daß das betreffende Ferment das Adrenalin deshalb leichter spalten kann, weil das Adrenalin bei bestimmten Erkrankungen der Nebennieren, insbesondere beim Morbus Addisoni, in einem leichter zersetzlichen, d. h. minderwertigen Zustand abgesondert wird. Aufgabe weiterer Untersuchungen muß es sein, nicht bloß die Frage der Adrenalin spaltenden Fermente bei Morbus Addisoni weiter zu verfolgen, sondern auch das qualitative Verhalten des Adrenalins, d. h. die Zersetzbarkeit des Adrenalins unter pathologischen Bedingungen noch genauer zu erforschen. Von besonderem Interesse für die vorliegende Frage ist noch die Tatsache, daß in dem seiner Zeit von Orth beschriebenen Fall die Tumorzellen aus der Rindensubstanz der Nebennieren stammten. Es verdient dies deshalb besondere Beachtung, weil die Pigmentzellen auch in der normalen Nebenniere nur im Rindenteil vorhanden sind und weil nach v. Gierke[2]) bei Negern die Nebennieren besonders groß und pigmentreich sein sollen.

---

[1]) W. L. Halle, Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. 1906, 276.

[2]) v. Gierke, In Aschoffs Lehrb. der patholog. Anatomie. 2, 1. Aufl. Fischer, Jena.

Ich selbst habe auch zwei Fälle von ausgesprochen rauchgrauer Hautfärbung in Erinnerung, bei welchen die Autopsie einen sehr großen Tumor der einen Nebenniere (Hypernephrom) ergeben hat. Hieraus soll jedoch keineswegs geschlossen werden, daß auch beim Morbus Addisoni das Adrenalin spaltende Ferment unter allen Umständen von der Nebenniere allein geliefert werden muß, sondern es soll die Möglichkeit durchaus zugegeben werden, daß es auch an anderer Stelle entstehen kann. Hieran läßt nicht bloß der Umstand denken, daß die Pigmentierungen eine Vorliebe für ganz bestimmte Stellen besitzen, sondern auch die Analogie mit einer andern Form von Melanose, die wir zuweilen im Dickdarm antreffen. Ich selbst habe einen solchen Fall erlebt[1]) und L. Pick[2]), der diese Frage sehr genau studiert hat, ist auf Grund eingehender Untersuchungen zu der Auffassung gelangt, daß die in der Darmschleimhaut abgelagerten Melanine durch Wirkung eines von den Bindegewebszellen der Darmschleimhaut produzierten oxydativen, Tyrosinase-ähnlichen, Fermentes auf die aromatischen Abbauprodukte des Eiweißes wie Tyrosin, Indol, Scatol usw. zustandekommen. Die hier erörterten Beobachtungen sprechen also für die Möglichkeit, daß das postulierte Ferment auch außerhalb der Nebennieren erzeugt werden kann, und sind infolgedessen m. E. auch für andere Formen von rauchgrauer Pigmentierung, die außerhalb des Rahmens des Morbus Addisoni zur Beobachtung gelangen, einer Beachtung wert, da das Adrenalin als Blutbestandteil ja an allen Körperstellen zur Verfügung steht.

In übrigen lassen sich all die vorliegenden Fragen erst dann mit Erfolg diskutieren, wenn wir in den Mechanismus und die Korrelationen der verschiedenen Hormone einen tieferen Einblick als bisher gewonnen haben. Jedenfalls zeigt aber auch unser Fall, daß es für die Betrachtung von Fragen aus dem Gebiet des Morbus Addisoni nicht genügt, den Blick auf die beiden Nebennieren-Organe allein zu beschränken, sondern daß für die Erörterung von Fragen aus diesem Gebiet das ganze Adrenalsystem zum Gegenstand einer Betrachtung gemacht werden muß. Die besondere Frage,

---

[1]) H. Strauß, Berl. klin. Wochenschr. **1911**, Nr. 14, 638.

[2]) L. Pick, Berl. klin. Wochenschr. **1911**, Nr. 20.

welche Einzelsymptome aus dem Erscheinungskomplex des Morbus Addisoni auf eine Insuffizienz des Marksystems und welche Befunde auf eine Insuffizienz des Rindensystems zu beziehen sind, soll dabei hier nicht weiter erörtert werden, doch scheint es, daß, soweit die Asthenie und Hypotonie in Frage kommen, die Insuffizienz des Marksystems an entscheidender Stelle stehen dürfte. Es ist deshalb mit Recht die schon weiter oben gestreifte Frage aufgeworfen worden, ob es nicht auch Partialformen der Nebennieren-Insuffizienz gibt, die bei der Deutung des adynamisch-hypotonischen Symptomenkomplexes auch außerhalb des Rahmens eines typischen Morbus Addisoni Berücksichtigung verdienen. Eine Betrachtung der vorliegenden Frage auf möglichst breiter Basis sowohl unter Berücksichtigung konstitutioneller wie endokriner Gesichtspunkte ist auch aus dem Grunde zu wünschen, weil eine Insuffizienz des Adrenalsystems wiederholt auch als Ursache plötzlicher Todesfälle (gewisse Fälle von Narkosentod, Salvarsantod, von Tod nach schweren psychischen Erregungen und starken körperlichen Anstrengungen) angeschuldigt worden ist. Was die Verbindung einer Insuffizienz des Adrenalsystems mit anderen Störungen der inneren Sekretion betrifft, so habe ich selbst einen Fall von Morbus Basedowi kombiniert mit Morbus Addisoni in Erinnerung — auch Chvosteck[1]) sen. hat über eine solche Beobachtung berichtet —, bei welchem die Verbindung zwischen Morbus Addisoni und Morbus Basedowi wohl über die Brücke eines gleichzeitig vorhanden gewesenen Habitus asthenicus erfolgt sein dürfte. In dem betreffenden Fall dürfte wohl eine Sekundär-Thyreose auf dem Wege entstanden sein, den ich[2]) in Übereinstimmung mit Oswald[3]) an anderer Stelle genauer erörtert habe. Auch einen Fall von Kombination von Sklerodermie mit typischer rauchgrauer Pigmentierung der Haut und mit Adynamie möchte ich hier anführen, weil auch v. Neußer und Wiesel[4]) eine solche Kombination erwähnen. Da der betreffende Fall auch nach anderer Richtung hin besonders interessant ist, gebe ich im folgenden kurz die Krankengeschichte.

[1]) Chvosteck, zit. bei v. Neußer und Wiesel.
[2]) H. Strauß, Arch. f. Verdauungskrankh. 22, H. 3, 1916.
[3]) Oswald, Münch. med. Wochenschr. **1915**, Nr. 27 und a. a. O.
[4]) v. Neußer und Wiesel, l. c. S. 147.

Patientin ist 47 Jahre alt und stammt aus gesunder Familie. Sie machte in der Kindheit Scharlach, Masern und Diphtherie durch, sowie später einmal Brechdurchfall. Patientin hat einmal geboren und hatte einen Abort. Schon seit vielen Jahren soll eine auffällige brünette Färbung der Haut bestehen, die in den letzten Jahren direkt „Zigeunerfärbung" angenommen hat. Auch sollen seit vielen Jahren Erscheinungen an den Fingern bestehen, die als Raynaudsche Krankheit gedeutet worden sind. Seit 2 Jahren leidet Patientin an Anfällen von Gelenkrheumatismus, die anfänglich ohne Fieber verliefen, später aber von Fieber begleitet wurden. Seit mehreren Monaten besteht dauerndes Fieber zwischen 37,5 und 38,8° mit Neigung zu Schweißen.

Der objektive Befund ergibt eine zart gebaute, magere, schlanke Patientin mit rauchgrauer Färbung der gesamten Haut, aber ohne charakteristische Flecken an der Mundschleimhaut. Es besteht beiderseits eine Schwellung der Kniegelenke und der Knöchelgelenke. Die Kniegelenke fühlen sich derb an. Ein flüssiger Erguß ist nicht vorhanden. Beide Hände befinden sich in gekrümmter Stellung (Greifhand), und es sind die einzelnen Phalangen der Finger nicht gegeneinander beweglich, da die Haut über den Phalangen derartig mit der Unterlage verwachsen ist, daß die ganzen Finger wie aus Marmor gemeißelt erscheinen. Die Nägel sind rissig, und die Nageloberfläche ist rauh. An den Lungen findet sich nichts Besonderes. Das Herz ist nicht vergrößert. Über der Herzspitze ist ein systolisches Geräusch zu hören. Der zweite Pulmonalton ist nicht verstärkt. Der Puls ist klein und weich. Der Blutdruck beträgt 155 mm Quecksilber. Die Abdominalorgane zeigen nichts Besonderes. Der Urin ist frei von Eiweiß, enthält aber reichlich Indican.

Patientin lag wochenlang an Temperaturen zwischen 37,5 und 38,8°. Ihr Zustand besserte sich aber durch eine Kur in Elster. Sie verlor das Fieber, und es trat wieder eine mäßige Beweglichkeit der Kniegelenke ein, dagegen änderte sich weder an der Färbung der Haut noch am Verhalten der Finger das geringste. 1 Jahr später traten die Erscheinungen einer Nephritis mit reichlichen Mengen von Eiweiß auf. Patientin erlag nach mehreren Monaten dieser Komplikation. Eine Sektion konnte nicht ausgeführt werden.

Vor ganz kurzer Zeit hat auch Zadek[1]) über einen Fall von Sklerodermie berichtet, in welchem braune Pigmentierungen an beiden Oberschenkeln und am Nacken vorlagen und gleichzeitig auch eine Rheumarthritis vorhanden war. Das Röntgenbild bei der jugendlichen Patientin ergab einen ähnlichen Befund wie bei Raynaudscher Krankheit und im Blut ebenfalls eine Mononucleose.

M. E. darf man in Fällen der vorliegenden Art mit multiglandulären Störungen der inneren Sekretion rechnen, weil

---

[1]) Zadek, Berl. med. Ges. Sitzung vom 13. XI. 16.

die Entstehung der Sklerodermie auch mit Störungen der inneren Sekretion in Zusammenhang gebracht worden ist (Störk[1]). Jedenfalls legen auch die hier skizzierten Beobachtungen ein weiteres Studium der hier ins Auge gefaßten Zusammenhänge nahe und lassen es höchst wünschenswert erscheinen, daß wir noch schärfere Kriterien zur Feststellung einer Insuffizienz des Adrenalsystems als bisher gewinnen. Ich denke in diesem Zusammenhang neben anderem speziell an die quantitative Bestimmung des Adrenalingehaltes im Blut und des Blutzuckergehaltes, sowie auch an die Eosinophilie des Blutes, weil eine solche nicht nur in meinen drei Fällen in exquisiter Weise nachgewiesen werden konnte, sondern schon v. Neußer bei Morbus Addisoni beobachtet worden ist[2]). Freilich ist die Eosinophilie ein sehr vieldeutiges Symptom, und es ist überhaupt noch durch besondere Untersuchungen festzustellen, ob sie in dem vorliegenden Zusammenhang eine Folge und damit auch einen Indicator einer Insuffizienz des Adrenalsystems darstellt. Da jedoch Sieß und Störk[3]) sowie L. Adler[4]) beim Status thymico-lymphaticus eine Verminderung der eosinophilen Zellen festgestellt haben, so liegt zunächst allerdings die Annahme eines Zusammenhangs mit einer Insuffizienz des Adrenalsystems und damit auch von Beziehungen zwischen Adrenalsystem und Leukopoese sehr nahe. Allerdings müssen spezielle Untersuchungen über die Berechtigung dieser Annahme noch endgültig entscheiden.

---

1) Störk, Wiener med. Wochenschr. **1909**, Nr. 3.
2) v. Neußer und Wiesel, l. c.
3) Sieß und Störk, Wiener med. Wochenschr. **1913**, Nr. 8.
4) L. Adler, Arch. f. Gynäkol. **95**, H. 2.

Zur Kenntnis der Bindungen des Schwefels im Harn.

Von

E. Salkowski.

(Aus der Chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 26. November 1916.)

In folgendem gebe ich eine Fortsetzung meiner den gleichen Gegenstand behandelnden Ausführungen in den Bänden 89 und 92 der Zeitschr. f. physiol. Chem. Gleichzeitig werde ich an einige weniger beachtete schwefelhaltige Verbindungen des Harns kurz erinnern.

Der Harn des Menschen, der Pflanzenfresser und Fleischfresser, also wohl der Säugetiere überhaupt, vielleicht auch der Amphibien, enthält neben völlig oxydiertem Schwefel in den Sulfaten und ätherschwefelsauren Salzen bekanntlich auch sogenannten neutralen Schwefel. So weit geht also die Übereinstimmung, dagegen finden sich wesentliche Unterschiede in der Zusammensetzung des Neutralschwefels, soweit wir sie überhaupt kennen, bei den verschiedenen Tierklassen.

1. Thiosulfat findet sich häufig, aber nicht konstant und ohne daß Gründe für diese Inkonstanz bekannt sind, im Hundeharn, nicht im menschlichen Harn mit Ausnahme eines viel zitierten Falles von Ileotyphus, der von Strümpell beobachtet worden ist, es fehlt ferner im Harn des Kaninchens bei Fütterung mit Mohrrüben, Hafer, Hafer und Luzerne, Kartoffeln und Milch, findet sich konstant und in erheblicher Menge, wie ich[1]) gefunden habe, bei Fütterung mit Weißkohl. Die im Weißkohl vorhandene Substanz, die das Auftreten von Thiosulfat bewirkt, ist nicht Thiosulfat selbst, sie geht aber in den wäßrigen Auszug über. Gibt man diesen neben Fütterung mit

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 89, 491, 1914. Bezüglich der zur Feststellung dieser Tatsache angewendeten Methoden verweise ich auf meine oben zitierten Arbeiten.

Mohrrüben, so tritt im Harn Thiosulfat aus. Diesen Nachweis habe ich schon früher geführt[1]) und vor einiger Zeit durch Verfütterung der Rückstände von Kohl vervollständigt.

2 kg Weißkohl wurden mit 10 l Wasser ausgekocht, filtriert und abgepreßt, dieses Verfahren noch zweimal mit geringeren Mengen Wasser wiederholt, so daß man sicher sein konnte, den Kohl von allen wasserlöslichen Bestandteilen befreit zu haben. Die Preßrückstände wurden einem Kaninchen zu fressen gegeben, das vorher mit Mohrrüben gefüttert war und dessen Harn sich als thiosulfatfrei erwiesen hatte. Das Tier erhielt die Rückstände an zwei aufeinanderfolgenden Tagen, jedesmal eine Hälfte. Es fraß die ausgelaugten Kohlrückstände willig und vollständig auf. Der an diesen Tagen entleerte Harn war völlig frei von Thiosulfat.

Über die Natur des Thiosulfat bildenden Körpers bin ich noch nicht ins klare gekommen. Da Kaninchen nach Eingeben von Taurin Thiosulfat entleeren, habe ich an die Möglichkeit gedacht, daß der Wasserauszug des Kohls Taurin enthalten könne, solches aber bisher nicht finden können; ohnehin spricht gegen diese Annahme der Umstand, daß der wäßrige Auszug keine Thiosulfatbildung mehr zur Folge zu haben scheint, wenn man ihn vorher mit Salzsäure erhitzt und dann neutralisiert hat. Freilich ist der negative Ausfall dieses Versuches auch einer anderen Deutung fähig: es wäre möglich, daß die relativ große Menge von Chlornatrium in diesem Auszug störend auf die Bildung von Thiosulfat gewirkt hat, die wahrscheinlich doch im Darmkanal stattfindet.

Es fragte sich, ob nicht auch beim Menschen Thiosulfatausscheidung durch reichliche Aufnahme von Weißkohl hervorgerufen werden könne. Um diese Frage zu entscheiden, nahm das Versuchsindividuum, ein Mann von ca. 70 kg Körpergewicht, an zwei aufeinanderfolgenden Tagen neben seiner gewöhnlichen Nahrung je 500 g Weißkohl zu sich. In dem Harn war keine Spur von Thiosulfat nachweisbar. Da beim Menschen nach dem Einnehmen von Thiosulfat dieses neben der durch Oxydation aus dem Thiosulfat entstehenden Schwefelsäure im Harn erscheint, so muß man annehmen, daß beim Menschen die

---

[1]) l. c. **92**, 90, 1914.

Bedingungen zur Überführung der unbekannten Substanz des Kohls in Thioschwefelsäure ebensowenig vorhanden sind wie für das Taurin. Dieser Schluß ist durchaus berechtigt, weil sich im übrigen, wie weiter unten berichtet werden wird, der Einfluß der Kohlaufnahme auf die Zusammensetzung des Harns in deutlichster Weise zeigte. Es kann auch nicht etwa der Thiosulfat erzeugende Körper bei der Zubereitung des Kohls zum Genuß verloren gegangen sein, da der eingedampfte wäßrige Auszug beim Kaninchen Thiosulfatausscheidung bewirkt.

2. Mercaptan, und zwar wohl Methylmercaptan, fand Nencki im menschlichen Harn nach Genuß von Spargeln; Rubner zum Teil im Verein mit Niemann und Stagnitta-Ballistreri bestätigte diesen Befund und konnte ihn auch auf den Harn nach dem Genuß von Blumenkohl, Teltower Rüben, Rotkohl ausdehnen. Im Kaninchenharn fand ich Mercaptan, wenn die Tiere mit Weißkohl gefüttert waren, dagegen nicht bei Fütterung mit Mohrrüben[1]). Das Mercaptan ist aber nicht als solches vorhanden, sondern in Form einer noch unbekannten Verbindung, die durch Kochen mit Essigsäure nicht zersetzt wird, sondern erst durch Erhitzen mit Salzsäure. Dieser Umstand kommt bei der quantitativen Bestimmung des Neutralschwefels in Betracht.

3. Äthylsulfid ist im Hundeharn in Form einer Vorstufe enthalten, aus der es durch Einwirkung von Ätzalkali oder Kalkmilch in Freiheit gesetzt werden kann. Es beruht hierauf der widerliche Geruch, der sich z. B. bei der Bestimmung des Ammoniaks im Hundeharn nach Schlösing bemerkbar macht.

Nach den Untersuchungen von Neuberg und Grosser[2]) ist die Muttersubstanz eine Sulfoniumbase von der Formel $(C_2H_5)_2S(CH_3)OH$, die als Wismutjodiddoppelverbindung isoliert werden konnte. Neuberg und Grosser nehmen an, daß sie aus bei der Darmfäulnis gebildetem Äthylsulfid stammt, das resorbiert und dann methyliert ist, ein Vorgang, von dem eine Reihe von Beispielen bekannt ist. Ob auch die von Fr. N. Schulz angegebene Schwefelwasserstoffentwicklung beim Kochen des Harns mit alkalischer Bleilösung unter Zusatz von Zink hierauf beruht, soll weiter unten erörtert werden.

---

[1]) l. c. **89**, 506.

[2]) Neuberg und Grosser, Centralbl. f. Physiol. **19**, 316, 1903.

Über das Vorkommen von Äthylsulfid bzw. einer Sulfoniumbase im menschlichen Harn und Kaninchenharn ist nichts bekannt, es ist jedoch unwahrscheinlich, da der charakteristische Geruch beim Behandeln dieser Harne mit Kalkmilch oder Ätzalkalien nicht auftritt.

4. Cystin ist in minimaler Menge aller Wahrscheinlichkeit nach in jedem Harn vorhanden. Dafür sprechen besonders die lange zurückliegenden Versuche von E. Baumann und Goldmann. Diese Autoren haben gefunden, daß sich beim Eintropfen von Benzoylchlorid in eine Lösung von Cystin und Natronlauge mit großer Leichtigkeit Benzoylcystin bildet und als unlöslicher Niederschlag ausscheidet, sowie weiterhin, daß das Benzoylcystin beim Kochen mit alkalischer Bleilösung Schwefelblei bildet. Daraufhin behandelten Baumann und Goldmann[1]) Harn (wohl sicher menschlichen) nach Zusatz von Natronlauge mit Benzoylchlorid, filtrierten von dem im wesentlichen aus benzoylierten Kohlenhydraten bestehenden Niederschlag ab, säuerten das Filtrat stark mit Schwefelsäure an und schüttelten es mit alkoholhaltigem Äther. Der Verdampfungsrückstand des ätherischen Auszuges gab beim Kochen mit alkalischer Bleilösung regelmäßig Schwefelblei. Gegen diese Beweisführung ist kaum etwas einzuwenden. Es ist fast undenkbar, daß sich im Harn noch ein zweiter Körper finden sollte, der beim Behandeln mit Benzoylchlorid eine in Äther lösliche Verbindung bildet, die beim Kochen mit alkalischer Bleilösung Schwefelblei gibt. Die Quantität des Schwefelbleis war immer nur sehr gering, in einem angeführten Beispiel 2,5 mg aus 200 ccm Harn, in manchen Fällen noch weniger, in anderen mehr. Bei Kontrollversuchen mit dem Harn zugesetztem Cystin zeigte sich indessen, daß nach diesem Verfahren bei weitem nicht die dem Cystin entsprechende Quantität Schwefelblei gefunden wurde, hauptsächlich nicht, weil das Cystin, wie die genannten Autoren fanden, beim Kochen mit alkalischer Bleilösung seinen Schwefel nur sehr langsam und niemals vollständig abspaltet, in Wirklichkeit wird die Quantität also etwas größer gewesen sein. Die nämliche Er-

---

[1]) E. Goldmann und E. Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 12, 254, 1888.

fahrung machte Fr. N. Schultz[1]); nach ihm spaltet sich bei 15stündigem Kochen von Cystin mit alkalischer Bleilösung unter Zusatz von geraspeltem Zink höchstens die Hälfte des Schwefels ab.

Auf die Gegenwart von Cystin werden noch zwei Reaktionen des Harns zurückgeführt, nämlich einerseits die von Fr. N. Schultz festgestellte Bildung von Schwefelblei beim langdauernden Kochen von Harn mit alkalischer Bleilösung bei Gegenwart von Zinkspänen, andererseits die von mir[2]) aufgefundene Bildung von Schwefelsilber beim längeren Erhitzen von Kaninchenharn mit Silbernitratlösung. Es fragt sich, inwieweit diese Anschauungen berechtigt sind.

Im menschlichen Harn fand Schultz nach seinem Verfahren in einem Falle als Cystinschwefel 0,0038 % = 7,5 % des oxydierten Schwefels, eine Zahl, die sich unter der Annahme, daß nur die Hälfte des Schwefels abgespalten wird, auf 15 % erhöhen würde, gleich 0,285 g Cystin in 1 l Harn. Daß der Harn so erhebliche Mengen Cystin enthält, ist nach den Erfahrungen von Goldmann und Baumann nicht wahrscheinlich. In einem zweiten Fall war die Quantität des abgespaltenen Schwefels 0,003 S in 100 ccm, woraus sich 0,200 Cystin im Liter ergeben würde. Auf die in demselben Harn enthaltene Quantität des oxydierten Schwefels und des Gesamtschwefels berechnet, ist die abgespaltene Schwefelmenge wesentlich geringer, nämlich 5,8 % des Schwefels der Schwefelsäure, 4,1 % des Gesamtschwefels[3]), also verdoppelt 11,6 % bzw. 8,2 %.

Diesen Zahlen schließen sich die von Petry[4]) in pathologischen Harnen erhaltenen an, nämlich in einem Fall von Leukämie 3,33 % des Gesamtschwefels, in einem Fall von Lebercirrhose 4,3 %, in einem zweiten 3,81 %. In einem Kaninchenharn fand Petry[5]) 8,33 % des Gesamtschwefels als abgespalten, in 100 ccm 0,00378 S. Daraus würden sich — immer unter

---

[1]) Fr. N. Schultz, Zeitschr. f. phys. Chem. **25**, 34, 1898.

[2]) l. c. **89**, 498.

[3]) Schultz hat diese Berechnung nicht ausgeführt. Er sagt von dem zweiten Fall nur: „Also besteht annähernd dasselbe Verhältnis wie in Fall I", was doch nicht als ganz zutreffend angesehen werden kann.

[4]) E. Petry, Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**, 45, 1900.

[5]) In der Tabelle auf S. 60 l. c. steht statt dessen 8,22 %, in dem vorhergehenden Text auf S. 59 unten 8,34 %.

der Annahme, daß bei dem Verfahren nur die Hälfte des Schwefels abgespalten wird — 0,282 g Cystin im Liter ergeben.

Über das Verhalten von menschlichem Harn beim Kochen mit Silberlösung verweise ich auf eine weiter unten mitgeteilte Versuchsreihe.

Aus Kaninchenharn erhielt ich durch das Silberverfahren noch höhere Zahlen als Petry, nämlich aus der Gesamtschwefelsäure von 100 ccm 0,099 $BaSO_4$, aus dem Silberniederschlag der gleichen Quantität 0,0134[1]) $BaSO_4$ = 0,0046 S. Das entspricht 13,6 % des Schwefels der Schwefelsäure. Die Umrechnung auf Cystin unterlasse ich, weil es nicht feststeht, welcher Anteil des Cystinschwefels durch Silbernitrat abgespalten wird.

Die Sachlage ist also, um es noch einmal zusammenzufassen, folgende. In menschlichem Harn finden Baumann und Goldmann nur Spuren oder doch äußerst wenig Cystin. Damit stimmen meine Beobachtungen nach dem Silberverfahren überein, nicht dagegen die von Schultz und Petry, die weit mehr Cystin ergeben. Für den Kaninchenharn[2]) haben beide Methoden, die von Schultz und Petry und die meinige, vorausgesetzt, daß der S-Gehalt des Silberniederschlags von Cystin herrührt, — einen bedeutend höheren Gehalt an Cystin ergeben, jedoch müßten noch weit mehr Bestimmungen ausgeführt werden. Was außerdem noch fehlt, ist: 1. Bestimmungen über den Cystingehalt nach dem Benzoylverfahren, wenn diese auch nach den Ausführungen von E. Baumann und Goldmann nicht gerade als quantitativ betrachtet werden können, und 2. Bestimmung der Quantität des aus dem Cystin durch Kochen mit Silbernitrat abgespaltenen Schwefels.

An der Abspaltung von Schwefel durch Silbernitrat und bei dem Schultzschen Verfahren könnten auch wohl die Muttersubstanzen des Äthylsulfids im Hundeharn und des Mercaptans im Kaninchenharn, in besonderen Fällen auch des Menschenharns beteiligt sein, doch ist hierüber nichts bekannt.

5. Rhodanalkali kommt in Spuren, oft auch in etwas mehr als Spuren in allen Harnen vor. Es fragt sich, wie der Rhodangehalt auf das Verfahren des Erhitzens mit Silbernitrat-

---

[1]) In Bd. 89 l. c. S. 498 steht irrtümlich 0,0143 statt 0,0134.

[2]) Der Rhodangehalt kommt hier kaum in Betracht.

lösung wirkt. Bei dem Zusatz von Silbernitrat scheidet sich Rhodansilber aus; da die Mischung ohne vorherige Filtration gekocht wird und eine Veränderung des Rhodansilbers beim Kochen usw. schwerlich stattfindet, verbleibt das Silberrhodanid bis zur Schmelzoperation mit Salpetermischung in dem Niederschlag, sein Schwefelgehalt muß somit die nach dem Schmelzen erhaltene Schwefelsäure vermehren. Das Verfahren von J. Munk zur Bestimmung des Rhodans besteht ja gerade darin, daß man den Harn mit Salpetersäure ansäuert, mit Silbernitrat fällt, den aus Chlorsilber und Silberrhodanid bestehenden, gut ausgewaschenen Niederschlag mit Salpetermischung schmilzt und die entstandene Schwefelsäure bestimmt. Gegen dieses Verfahren ist nichts einzuwenden, vorausgesetzt, daß die Schwefelsäure ganz aus dem Niederschlag ausgewaschen ist, was nicht leicht zu erreichen ist. Da ich nach meinem Verfahren, das ja das Rhodan mit einschließt, nur minimale Mengen von Schwefelsäure erhalten habe, besteht scheinbar ein Widerspruch mit meinen Angaben und denen von J. Munk. Dieser Widerspruch erklärt sich aber dadurch, daß es sich in beiden Fällen eben nur um äußerst geringe Mengen handelt[1]). Daß Rhodanalkali sich in allen Harnarten findet, kann nicht wundernehmen. Plimmer hat gezeigt, daß Glykokoll bei der Oxydation mit der Neumannschen Säuremischung oder Chromsäure 11,1 % Blausäure liefert, andere Aminosäuren etwas weniger. Cyanwasserstoff geht nach den übereinstimmenden Angaben vieler Autoren im Organismus in Rhodanwasserstoff über. Da Glykokoll im Organismus reichlich entsteht, so kann wohl ein Teil desselben nicht in Harnstoff übergehen oder an Benzoesäure gebunden werden, sondern durch eine Nebenreaktion unter Bildung von Cyanwasserstoff oxydiert werden. Dafür sprechen Untersuchungen, die von Willanen[2]) auf meine Veranlassung angestellt sind. Willanen gab Kaninchen, in deren Harn Rhodan direkt nicht oder kaum nachweisbar war, größere Dosen — 5 bis 10 g — Glykokoll: danach gab der Harn direkt Rhodanreaktion.

---

[1]) Siehe hierüber übrigens weiter unten den Versuch am Ende der Arbeit.

[2]) Willanen, diese Zeitschr. 1, 129. 1906.

Nach Saxl[1]) bzw. Salomon und Saxl[2]) ist Rhodan in dem Harn von Krebskranken in der Regel in vermehrter Menge vorhanden; über eigene Beobachtungen verfüge ich nicht, mit dem Silberverfahren erhielt ich in einigen Fällen nicht mehr Schwefelsäure wie in normalem Harn.

6. Alle genannten Verbindungen, zu denen dann noch das Urochrom und die verschiedenen Oxyproteinsäuren hinzutreten, sind an der Zusammensetzung des sogenannten neutralen Schwefels beteiligt. Von der Größe des Anteils, den jede dieser Substanzen hat, wissen wir nur wenig; für die meisten derselben mangelt es noch an Methoden zur quantitativen Bestimmung. Die Bezeichnung „neutraler Schwefel" ist insofern nicht ganz korrekt, als zu ihm in der Regel auch das Thiosulfat gerechnet wird, das den Schwefel doch in oxydierter Form enthält, aus demselben Grunde verbietet sich auch der mitunter gebrauchte Ausdruck „nicht oxydierter Schwefel". Daß diese Inkorrektheit empfunden wird, prägt sich in der Literatur dadurch aus, daß dem Ausdruck „neutraler Schwefel" meistens das Wort „sogenannter" vorgesetzt wird. Ich habe deshalb vorgeschlagen, den von mir selbst eingeführten Ausdruck „neutraler Schwefel" als nicht ganz zutreffend fallen zu lassen und statt dessen von „Nichtsulfatschwefel" zu sprechen in Anlehnung an den von den Agrikulturchemikern gebrauchten Ausdruck „Nichteiweiß" für die nicht dem Eiweiß angehörenden Stickstoffsubstanzen der Pflanzen und Pflanzenprodukte, indessen kann man ja auch den Ausdruck „neutraler Schwefel" weiter gebrauchen, wenn man sich dessen bewußt bleibt, daß er unter Umständen eine Inkorrektheit einschließt.

Es fragt sich nun, wie man die Gesamtsumme des Schwefels dieser Verbindungen einwandfrei bestimmt. Ich gehe dabei nicht auf die Wahl der Oxydationsmethode ein, sondern nur auf die Frage, wie man zu verfahren hat, um Verluste an Schwefel bei der vorbereitenden Operation des Eindampfens zu vermeiden. Diese Frage beantwortet sich sehr einfach: Man ist sicher, keinen Schwefel zu verlieren, wenn man bei durch Natriumcarbonat bewirkter schwach alkalischer Reaktion

---

[1]) Saxl, diese Zeitschr. 55, 224, 1913.

[2]) Salomon und Saxl, Wiener klin. Wochenschr. 24, 449, 1911; zitiert nach dem Centralbl. f. Biochemie u. Biophysik 11, 645, 1911.

eindampft; dagegen verliert man sicher Schwefel, wenn man als vorbereitende Operation bei durch Salzsäure bewirkter saurer Reaktion eindampft, denn jeder Harn, auch der thiosulfatfreie, gibt dabei schweflige Säure ab[1]), die nur aus Nichtsulfatschwefel stammen kann, Kaninchenharn auch Mercaptan. Ob dieser Verlust so groß ist, daß er quantitativ in Betracht kommt, kann freilich zweifelhaft sein, sicher ist es der Fall im thiosulfathaltigen Harn. Man könnte vielleicht annehmen, daß Hundeharn beim Eindampfen bei alkalischer Reaktion Äthylsulfid abgeben kann, doch ist die Äthylsulfidabspaltung bisher nur bei Einwirkung von Ätzalkalien oder Ätzkalk beobachtet worden.

Am empfehlenswertesten scheint mir die Bestimmung des Nichtsulfatschwefels aus der Differenz zwischen Gesamtschwefel und Gesamtschwefelsäure. Diese Art der Bestimmung schließt allerdings die Unbequemlichkeit ein, daß man zwei Bestimmungen ausführen muß, indessen wird die Bestimmung des Gesamtschwefels in den meisten Fällen durch die Art der Fragestellung ohnehin erfordert sein. Will man den Neutralschwefel für sich allein bestimmen, so darf man das Filtrat von der Ausfällung der Schwefelsäure durch Bariumchlorid nicht direkt eindampfen, sondern muß es vorher durch Natriumcarbonat alkalisieren und dann am besten vom ausgefallenen Bariumcarbonat abfiltrieren und nachwaschen, aber auch in diesem Falle muß man im Harnfiltrat auf etwa noch vorhandenes Barium Rücksicht nehmen, da Bariumcarbonat in diesem nicht ganz unlöslich ist.

Über die Bedeutung des neutralen Schwefels kann nach der übereinstimmenden Ansicht aller Autoren, die sich mit dieser Frage beschäftigt haben, kein Zweifel sein: er stellt ein unvollständiges Oxydationsprodukt dar, das in vermehrter Menge ausgeschieden wird beim Hunger und bei dem durch toxische Substanzen vermehrten Eiweißzerfall. Was den letztern Fall betrifft, so fanden Kast uhd Mester[2]) eine Vermehrung desselben bei langdauernder Chloroformnarkose, Rudenko[3]) und Sawelieff[4]) in auf meine Veranlassung angestellten Versuchen

[1]) l. c. **89**, 490.

[2]) Kast und Mester, Zeitschr. f. klin. Med. **18**, 469, 1891.

[3]) Rudenko, Virchows Archiv **125**, 102, 1891.

[4]) Sawelieff, Virchows Archiv **135**, 195, 1894. Ich berichtige bei dieser Gelegenheit ein nach den Zitaten dieser Arbeiten in dieser Zeitschr.

bei Hunden bei Zufuhr von Chloroformwasser, das nach meiner früheren Beobachtung als Protoplasmagift den Eiweißzerfall steigert. Augenscheinlich liefert das Körpereiweiß mehr neutralen Schwefel als das Nahrungseiweiß. In erschöpfender Weise hat M. Weiß[1]) die Verhältnisse des neutralen Schwefels bei Gesunden und Kranken behandelt, wobei er mit Recht mehr Wert legt auf die absolute Zahl für den Neutralschwefel als auf sein Verhältnis zum Gesamtschwefel. Auf seine Schlußsätze sei hier hingewiesen[2]).

Nur ein Punkt verdient vielleicht noch etwas eingehender berücksichtigt zu werden, als es von Weiß geschehen ist: das ist der Einfluß der Nahrung auf die Ausscheidung des neutralen Schwefels.

In wie hohem Grade die Ausscheidung des neutralen Schwefels durch die Nahrung beeinflußt werden kann, habe ich durch Versuche am Kaninchen[3]) gezeigt. Im Mittel von 3 Tagen betrug die tägliche Quantität des Neutralschwefels ausgedrückt als $BaSO_4$ bei Mohrrübenfütterung 0,222 g = 0,0305 g S, bei Fütterung mit Weißkohl dagegen 1,137 g = 0,1563 g S. Es fragt sich, ob sich ein ähnlicher Einfluß auch beim Menschen nachweisen läßt. Zur Entscheidung dieser Frage nahm die oben erwähnte Versuchsperson, ein Mann von ca. 70 kg Körpergewicht, bei freigewählter, jedoch entsprechend der Lebenslage des Betreffenden vorwiegend vegetabilischer, eiweißarmer Kost an 2 Tagen je 500 g Weißkohl zu sich. Naturgemäß wurde wohl an diesen Tagen von den anderen Nahrungsmitteln etwas weniger gegessen. Nachfolgende Tabelle enthält die gefundenen Werte (siehe nächste Seite).

Der Neutralschwefel hat demnach eine zwar geringe, aber doch unzweifelhafte Zunahme erfahren.

32, 360 mögliches Mißverständnis. Diese Autoren haben nicht, wie es scheinen könnte, den Einfluß der Chloroformnarkose untersucht, sondern den Einfluß des Chloroformwassers.

[1]) M. Weiß, diese Zeitschr. 27, 134, 1910.

[2]) Ich hätte gern die Schlußsätze von Weiß ihrem Wortlaute nach angeführt, unterlasse es aber, weil ich befürchte, daß der Leser bei etwas flüchtiger Kenntnisnahme annehmen könnte, daß diese Schlußsätze von mir herrühren.

[3]) l. c. 89, 505.

	Harnmenge g	Stickstoff	$BaSO_4$ aus Gesamt-S		$BaSO_4$ und Gesamtschwefelsäure		$BaSO_4$ aus Neutral-S	Neutral-S
			%	Tagesmenge	%	Tagesmenge		
Normaltag I	1015	6,707	0,3634	3,6885	0,2632	2,6715	1,0170	0,1399
„ II	920	7,645	0,4388	4,037	0,3272	3,0102	1,0268	0,1402
Versuchstag I	1550	6,271	0,2932	4,5445	0,2172	3,3666	1,1778	0,1618
„ II	1015	6,522	0,5046	5,1217	0,3896	3,9544	1,1673	0,1605

Wie stellen sich nun aber die Verhältnisse zum Gesamtschwefel?

Der neutrale Schwefel betrug in Prozenten zum Gesamtschwefel:

Erster Vortag . . . . . 26,5 %[1]
Zweiter „ . . . . . 25,4 %
Erster Versuchstag . . . 26,2 %
Zweiter „ . . . 22,8 %

Danach hätte also der neutrale Schwefel nicht zugenommen, sondern im Gegenteil sogar etwas abgenommen. Diese Art der Berechnung kann also unter Umständen ebenso zu irrtümlichen Schlußfolgerungen führen, wie bekanntlich die Relation von Ätherschwefelsäure zu Sulfatschwefelsäure. Die scheinbare Abnahme des Neutralschwefels kommt in diesem Falle durch die starke Steigerung des Sulfatschwefels zustande. Es ist allerdings zuzugeben, daß diese Steigerung im vorliegenden Falle bewirkt wird durch den ungewöhnlich hohen Gehalt der Nahrung an schwefelsauren Salzen, der nur selten vorkommen wird.

Sehr bemerkenswert scheint mir auch im vorliegenden Falle, daß der absolute Wert für den Neutralschwefel trotz des geringen Eiweißumsatzes im Körper, der aus den niedrigen Zahlen für die N-Ausscheidung im Harn hervorgeht, innerhalb der normalen Grenzen liegt. Auf die absolute Höhe des Neutralschwefels wird also in Übereinstimmung mit M. Weiß der Hauptwert zu legen sein, während die Berechnung der Verhältniszahlen zu irrtümlichen Schlußfolgerungen führen kann, denn die oben angeführten Zahlen für die prozentuale Beteiligung des Neutralschwefels zum Gesamtschwefel würde entschieden schon als pathologisch angesehen werden. Man könnte nun

[1]) Diese Zahlen sind durch Division der betreffenden Werte für Bariumsulfat direkt erhalten.

der Ansicht sein, daß sie unter den Begriff des Hungerstoffwechsels fallen. Ich bin nicht dieser Meinung, da das betreffende Individuum gewohnheitsmäßig dauernd so wenig Eiweiß zu sich nahm, sich also jedenfalls im N-Gleichgewicht befand.

Weiterhin habe ich noch festgestellt, inwieweit die Zunahme des Neutralschwefels denjenigen Anteil betrifft, den man nach meinem Silberverfahren erhält. Bezüglich der Ausführung desselben verweise ich auf meine frühere Arbeit; ich möchte nur noch über einen Punkt eine Bemerkung hinzufügen. Die Lösung der Salpeterschmelze enthält das metallische Silber zum Teil in so äußerst feiner, staubförmiger Verteilung, daß es selbst durch das Filter Schleicher und Schüll Nr. 590 nicht immer vollständig zurückgehalten wird, namentlich nicht beim ersten Aufgießen. Das kann natürlich Fehler verursachen. Man tut daher gut, die Lösung der Schmelze vor dem Filtrieren einen Tag stehen zu lassen, wenn dadurch auch das Verfahren, das ohnehin 4 bis 5 Tage in Anspruch nimmt, noch verlängert wird. Die nachfolgende Tabelle enthält die gefundenen Werte:

Tag	Aus 50 ccm Harn erhalten aus $BaSO_4$	Derselbe Wert korrigiert [1]	$BaSO_4$ (korrigiert) für die 24stündige Harnmenge	Schwefel daraus	
Erster Vortag . .	0,0150	0,0135	0,2335	0,0321	0,0294
Zweiter „ . .	0,0140	0,0105	0,1932	0,0266	
Erster Versuchstag	0,0123	0,0088	0,2728	0,0376	0,0373
Zweiter „	0,0167	0,0135	0,268	0,0369	

Der nach dem Silberverfahren erhaltene Schwefel hat also eine zwar geringe, aber doch nachweisbare Zunahme erfahren. Ein Vergleich mit der vorhergehenden Tabelle ergibt, daß dieser Schwefel nur etwa $^1/_4$ des Neutralschwefels ausmacht.

Da man die Gültigkeit der Korrektur anzweifeln kann, habe ich den Schwefel auch aus den nicht korrigierten Werten berechnet.

Es ergibt sich danach Schwefel:

Erster Vortag	0,0419 g	0,0387
Zweiter „	0,0354 g	
Erster Versuchstag . .	0,0524 g	0,0495
Zweiter „ . .	0,0466 g	

[1]) l. c. 89, 499, Fußnote.

Auch bei dieser Art der Berechnung ergibt sich demnach eine Steigerung an den Versuchstagen.

Da das Rhodansilber, das beim Versetzen des Harns (ohne Salpetersäurezusatz) mit einem Überschuß an Silbernitrat mit den anderen Silberverbindungen ausfällt, beim Erhitzen nicht verändert wird, so sind die angegebenen Werte gleichzeitig als annähernde Rhodanbestimmungen anzusehen. Aus den angeführten korrigierten Werten für das Bariumsulfat würde sich CNSH ergeben:

Erster Vortag	59,1 mg
Zweiter "	48,9 "
Erster Versuchstag . . .	69,1 "
Zweiter " . . .	67,8 "

Diese Werte liegen den für die Ausscheidung des Rhodans angegebenen, nach verschiedenen Methoden erhaltenen, die allerdings ziemlich starke Schwankungen zeigen, nahe. Ob sie beim Menschen nur auf Rhodan zu beziehen sind oder auf Abspaltung von Schwefel aus Cystin bzw. cystinartigen Körpern, muß einstweilen dahingestellt bleiben — für das Kaninchen ist dies meiner Ansicht nach bestimmt zu verneinen. Wiederholt habe ich mich überzeugt, daß beim Kochen des Filtrats aus dem Silberniederschlag aus menschlichem Harn bei Überschuß von Silbernitrat nur eine sehr geringfügige Ausscheidung eintritt und daß in dieser nur äußerst wenig Schwefelsilber enthalten ist. Die Schmelze dieser Niederschläge aus den Filtraten gab für 50 ccm Harn nur wenige Milligramm $BaSO_4$, so daß nach Abzug der Korrektur kaum etwas übrig bleibt. Entscheidend für die Frage des Cystingehaltes im normalen Harn ist diese Versuchsanordnung aber nicht, da Cystin durch Silbernitrat gefällt wird, ob auch im Harn vollständig, bleibt andererseits eine offene Frage.

Zur Kenntnis des Anästhesins und der Isäthionyl-p-aminobenzoesäure.

Von

E. Salkowski.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 26. November 1916.)

1. Anästhesin.

Unter der Bezeichnung „Anästhesin" findet bekanntlich der p-Aminobenzoinsäureäthylester vielfach medikamentöse Anwendung als lokales Anästheticum. Vor allen anderen derartigen Mitteln hat es nach allgemeiner Ansicht den Vorzug vollständiger Ungiftigkeit[1], leider aber wird die Anwendbarkeit des Anästhesins[2]) dadurch sehr beschränkt, daß es in Wasser so gut wie ganz unlöslich ist. Würde es gelingen, ein ungiftiges, lösliches Derivat desselben mit Erhaltung der anästhesierenden Eigenschaften darzustellen, so wäre damit ein ideales Lokalanästheticum geschaffen, das gerade jetzt, wo es so oft gilt, bei kleineren Operationen Schmerzen durch lokale Anästhesie aufzuheben, in Fällen, in denen allgemeine Narkose nicht indiziert erscheint, besonders wertvoll wäre. Der lebhafte Wunsch nach dieser Richtung, etwas Brauchbares zu finden, hat mich seit Beginn des Krieges veranlaßt, mich mit diesem mir sonst etwas ferner liegenden Gegenstande zu beschäftigen. Um nicht eine durch diese Einleitung vielleicht veranlaßte Erwartung zu

---

[1]) v. Noorden, Berl. klin. Wochenschr. 1902, Nr. 17; zitiert nach Lüders: Die neuen Arzneimittel, 1907, S. 59. — Von befreundeter Seite ist mir inzwischen — leider erst nachträglich — mitgeteilt worden, daß die Giftigkeit des Novocains praktisch keine oder kaum eine Rolle spielt.

[2]) Der Kürze halber soll diese Bezeichnung im folgenden beibehalten werden.

enttäuschen, will ich gleich erklären, daß es mir nicht gelungen ist, das vorgesteckte Ziel zu erreichen, es haben sich aber einige Beobachtungen ergeben, die mir immerhin der Mitteilung wert erscheinen. Einen Teil derselben habe ich bereits unter dem Titel: „Über einige Isäthionyl-Derivate“ in den Berichten der Deutschen Chemischen Gesellschaft[1]) mitgeteilt. Auf diese wird hier nur kurz hingewiesen werden.

Bevor ich zur Mitteilung meiner Ergebnisse übergehe, darf ich zwei Punkte nicht unerwähnt lassen.

Die Wichtigkeit der Löslichmachung des Anästhesins hat auch dem Entdecker der Wirkung desselben, Ritsert, eingeleuchtet, es ist auch ein lösliches Anästhesin unter der Bezeichnung „Subcutin“ in den Handel gekommen, dasselbe scheint jedoch wenig Anklang gefunden, da es nur etwa in dem Verhältnis 1:100, bei Körpertemperatur angeblich zu $2^1/_2\,^0/_0$[2]) in Wasser löslich ist. Nach der angegebenen Quelle soll es „paraphenolsulfosaures Anästhesin“ sein. Nach den Erfahrungen, die ich bei Versuchen zur Darstellung dieser Verbindung, wenn es eine ist, gemacht habe, scheint sie sehr zersetzlich zu sein, jedenfalls ist es mir nicht gelungen, ein Präparat herzustellen, das sich klar in Wasser löst.

Der zweite Punkt betrifft die Sonderstellung, die das Anästhesin als ungiftiges Anästheticum einnimmt. Sie hat sich seit den 2 Jahren von Beginn meiner Versuche geändert. Auf diesen Punkt komme ich am Schlusse des ersten Teils meiner Mitteilung zurück.

Mein erster Versuch, das Anästhesin löslich zu machen, knüpfte an die Bildung des Neosalvarsans aus dem Salvarsan an, die bekanntlich auf dem Ersatz eines H-Atoms der NH_2-Gruppe durch den Rest des formaldehydsulfoxylsauren Natriums beruht. Diese Reaktion erschien auch beim Anästhesin durchaus möglich unter Bildung einer Verbindung von beistehender Konstitution:

$$C_6H_4\begin{matrix}\diagup NHCH_2OSONa\\ \diagdown COOC_2H_5\end{matrix}.$$

Ich versuchte die Einführung der Gruppe zunächst durch Erhitzen mit Wasser am Rückflußkühler. Dieser Versuch wäre

[1]) E. Salkowski, Ber. d. D. chem. Ges. **49**, 1376, 1916.

[2]) Riedels Berichte und Mentor **1908**, 225.

gegenstandslos gewesen, wenn eine in der Literatur vorkommende Angabe, daß das Anästhesin beim Kochen mit Wasser sich zersetzt, sich als richtig erwiesen hätte. Dies war also vorher zu versuchen.

0,3 g Anästhesin (absichtlich so wenig) wurden mit 100 ccm Wasser 20 Stunden lang am Rückflußkühler gekocht. Die nach 24 stündigem Stehen in der Kälte ausgeschiedene Substanz wog nach dem Trocknen 0,2 g, zeigte den Schmelzpunkt 91°, war also unverändertes Anästhesin. Das Anästhesin wird also durch Kochen mit Wasser nicht oder nicht merklich zersetzt. Gleichzeitig geht daraus hervor, wie außerordentlich wenig löslich das Anästhesin ist.

Auf Grund dieses Versuches wurden gleiche molekulare Mengen von Anästhesin und formaldehydsulfoxylsaurem Natrium, das im Handel unter dem Namen Rongalit[1]) zu haben ist, und zwar 3,3 g Anästhesin und 2,4 (statt 2,36) g Rongalit, eine verschiedene Anzahl von Stunden mit 100 ccm Wasser am Rückflußkühler erhitzt. Das anfangs geschmolzene Anästhesin löste sich allmählich auf, nach dem Erkalten am nächsten Tage fand sich etwa die Hälfte wieder ausgeschieden.

Um das Gelöste zu gewinnen, wurde das Filtrat von dem ausgeschiedenen Anästhesin eingedampft. Schon während des Eindampfens überzog sich die Lösung, wie Kalkwasser durch Kohlensäure, mit einer Haut, das Filtrat gab beim Eindampfen immer wieder neue Ausscheidungen, so daß schließlich die durch Eindampfen erhaltene Substanz in Wasser so gut wie unlöslich war. Da der gewünschte Effekt, die Löslichkeit, nicht erreicht war, wurde von der weiteren Untersuchung Abstand genommen. Auch Schmelzen der Mischung bei gelinder Temperatur führte zu keinem Resultat[2]).

Ebenso negativ — in der gewünschten Richtung — verliefen Versuche mit formaldehydschwefligsaurem Na; auf die Einzelheiten derselben gehe ich daher nicht ein.

Da sich Anästhesin bis zu einem gewissen Grade in p-Phenolsulfosäure löst, versuchte ich eine Anzahl anderer Säuren auf ihr Lösungsvermögen, u. a. auch die Isäthionsäure (käufliche),

---

[1]) Sehr schwach schwefelsäurehaltig.

[2]) Auf die in beiden Fällen sich bildenden interessanten Körper gedenke ich noch zurückzukommen.

mit der ich zufällig gerade nach einer anderen Richtung beschäftigt war. Das Anästhesin löst sich reichlich in dieser Säure, namentlich in der Wärme. Die Lösung zeigt in höchster Ausprägung die Erscheinung der Übersättigung. Läßt man sie in einem Glasschälchen, vor Erschütterung geschützt, stehen, so bleibt sie unverändert. Sowie man aber das Schälchen erschüttert oder die Innenfläche berührt, scheidet sich momentan massenhaft Anästhesin aus. Schon diese Eigenschaft macht, abgesehen von der stark sauren Reaktion, eine solche Lösung für die medikamentöse Anwendung unbrauchbar. Auch der geringste Zusatz von Natriumcarbonat bringt das Anästhesin zur Ausscheidung.

Der Versuch, eine lockere Verbindung herzustellen durch Kochen von Anästhesin mit Isäthionsäure in molekularen Mengen (3,3 g Anästhesin, 5,1 g käufliche 50%ige Isäthionsäure) am Rückflußkühler führte zu keinem Resultat; Äther nahm aus der Lösung unverändertes Anästhesin auf.

Erfolgversprechend erschien dagegen die Beobachtung, daß der beim Eindampfen molekularer Mengen aus Anästhesin und Isäthionsäure auf dem Wasserbad erhaltene Rückstand allmählich in Alkohol unlöslich wird, um so mehr, je länger das Erhitzen dauert, während die Mischung der beiden Körper in Alkohol löslich ist. Allein auch diese Hoffnung trog: der in Alkohol unlösliche Körper ist allerdings eine neue Verbindung, aber nicht die gewünschte, sondern eine Isäthionyl-p-aminobenzoesäure, der keine anästhesierende Wirkungen mehr zukommt. Herr Prof. Gottlieb (Heidelberg), dem ich auch an dieser Stelle verbindlichst danke, hat die Freundlichkeit gehabt, das Kaliumsalz auf etwaige anästhesierende Wirkung zu untersuchen. Das Resultat war ein gänzlich negatives. Nach der Zusammensetzung der Verbindung ist eine anästhesierende Wirkung auch kaum zu erwarten; die Prüfung ist zu einer Zeit ausgeführt, als die Zusammensetzung der Verbindung noch nicht sicher feststand. In größerer Ausbeute erhält man die Säure beim 3- bis 4stündigen Erhitzen des beim Eindampfen auf dem Wasserbad erhaltenen Rückstandes bei 140 bis 145°. Bei ihrer Bildung wird ein Wasserstoffatom der NH_2-Gruppe durch den Isäthionsäurerest ersetzt, gleichzeitig aber dabei Alkohol abgespalten: die Verbindung hat also die Formel

$$C_6N_4\langle{}^{NHSO_2 . C_2N_4OH}_{COOH}.$$

Diese Säure habe ich in den Berichten der chemischen Gesellchaft[1]) beschrieben. Wie zu erwarten war, hat es sich gezeigt, daß sich die Verbindung auch direkt aus der p-Aminobenzoesäure darstellen läßt und daß auch die Ortho- und Metaamidobenzoesäure sowie fernerhin auch die Aminosäuren der aliphatischen Reihe derartige Isäthionylverbindungen bilden; das Isäthionylglykokoll habe ich bereits[2]) kurz beschrieben. Es ist zu vermuten, daß der Äthylester der Isäthionyl-p-aminobenzoesäure wiederum anästhesierend wirken würde, allein alle Bemühungen, ihn in größerer Menge zu erhalten, sind vergeblich gewesen, er scheint nicht haltbar zu sein. Auf einige in den „Berichten“ nicht angegebene Eigenschaften der Säure und das physiologische Verhalten komme ich weiter unten kurz zurück.

Was weitere Säuren außer der Isäthionsäure betrifft, so lösen Weinsäure und Citronensäure in der Hitze reichlich Anästhesin, beim Erkalten erstarren die Lösungen zu einem Krystallbrei. Ob die Krystalle Anästhesin sind, wie wahrscheinlich, oder vielleicht eine Verbindung von Anästhesin mit der betreffenden Säure habe ich nicht untersucht, da die Unlöslichkeit meinem Zweck nicht entsprach, ich also kein Interesse daran hatte. Versuche mit einer Anzahl anderer organischer Säuren verliefen negativ.

Eine Sonderstellung nimmt die Milchsäure ein. Sie löst Anästhesin reichlich. Die Lösung bildet nach dem Eindampfen auf dem Wasserbad einen Sirup, der sich in Alkohol und Äther löst. Verdünnt man diesen Sirup mit etwa dem 4fachen Volumen Wasser, so entsteht eine milchige Flüssigkeit, augenscheinlich durch Ausscheidung von Anästhesin. Diese wird klar bei Zusatz von $^1/_4$ Volumen Alkohol, ebenso beim Erhitzen, doch tritt in letzterem Falle beim Erkalten aufs neue Trübung ein. In der Lösung ist unverändertes Anästhesin und Milchsäure nachweisbar.

In käuflicher Milchsäure löst sich das Anästhesin leicht zu etwa 20%, vielleicht noch mehr, zu einer meist etwas trüben

---

[1]) l. c.

[2]) l. c.

Lösung. Diese Lösung könnte vielleicht benutzt werden bei der Anwendung der Milchsäure zur Ätzung tuberkulöser Geschwüre, und würde voraussichtlich die danach auftretenden erheblichen und anhaltenden Schmerzen[1]) lindern. Es lohnte sich wohl, einen Versuch damit zu machen.

Neuberg[2]) hat in seinem kürzlich unter dem Titel „Hydrotropische Erscheinungen“ veröffentlichten überraschenden Beobachtungen auch das Anästhesin erwähnt. Er sagt darüber l. c. 175: „Anästhesin (p-Aminobenzoesäureäthylester) löst sich in Wasser bei 15° zu ca. 0,2%, dagegen in Lösungen von Natriumsalicylat, Natriumbenzoat [wie oben[3])] zu 2%, in toluolsulfosaurem Natrium [wie oben[3])] zu 2,5% und in amylschwefelsaurem Natrium (100 g Salz in 200 ccm Wasser) zu 3%“.

Ob die Löslichkeit für therapeutische Zwecke genügt, entzieht sich meiner Beurteilung.

Ich habe außerdem noch qualitative Lösungsversuche mit den Na-Salzen der Phenylessigsäure, Phenylpropionsäure, p-Oxybenzoesäure, der 3-Aminobenzoesäuren, Kresotinsäure, Hippursäure, Benzolsulfonsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Palmitinsäure, Ölsäure und Isäthionyl-p-aminobenzoesäure angestellt, ohne indessen ein besonders starkes Lösungsvermögen an einer dieser Substanzen zu bemerken. Für ganz abgeschlossen möchte ich jedoch diesen Teil der Versuche nicht ansehen. Dazu müßten mindestens sämtliche von Neuberg als hydrotropisch erkannten Na-Salze geprüft werden, sofern sie sich nicht etwa durch eine toxische Wirkung verbieten.

Sehr eigentümlich ist das Verhalten einer wenig gekannten, in Beilstein und den Lehrbüchern (weil hinsichtlich ihrer elementaren Zusammensetzung keine Sicherheit besteht) nicht erwähnten Verbindung. Das ist das ricinosulfonsaure Natrium. In Mercks Index, 2. Aufl.[4]), heißt es von demselben: „Natrium sulforicinicum pur. nach Berlioz-Heryng $C_{18}N_{33}O_2OSO_3$ (?). Klare gelbbraune Flüssigkeit von Sirupkonsistenz und schwach alkalischer Reaktion, löslich in Äther, Alkohol, Chloroform. Mit

[1]) v. Tappeiner, Lehrb. der Arzneimittellehre, 10. Aufl., 112, 1913.

[2]) Neuberg, diese Zeitschr. 76, 92, 1916.

[3]) Der Zusatz „wie oben“ bezieht sich auf die Konzentration der Lösung.

[4]) l. c. S. 177.

Wasser geschüttelt, bildet sich unter starkem Schäumen eine Emulsion. D = 1,035. Dient als Lösungsmittel von Phosphor, Schwefel, Jod, Phenol, Pyrogallussäure, Resorcin, Jodkalium, Naphthalin. Starkes Antisepticum. Gebraucht meist in Form des Phenolnatrium sulforicinicum[1]).

Das Phenol-Natrium-sulforicinicum wird l. c. auf S. 195 beschrieben, und zwar mit einem Gehalt von 25 und 30 $^0/_0$ Phenol.

Erwähnt ist das Natrium sulforicinicum in neuester Zeit von Kobert[2]) in einer den Interessen der Lederindustrie gewidmeten internationalen Zeitschrift mit dem sonderbaren Titel „Collegium". Von einem, diesem Präparat jedenfalls sehr nahestehenden, als Polysolve oder Solvin bezeichneten, sagt Kobert, daß die Angaben des Erfinders Müller-Jacobs, nach denen dasselbe imstande sein soll, Schwefel, Phosphor, Selen, Jod, Terpentinöl, Kampfer, Thymol, Naphthol, „ja selbst Indigo" zu lösen, wohl auf eine Verwechslung von Lösung mit feinster Suspension beruhen.

Zu meinen Versuchen stand mir eine kleine Quantität eines von der Firma Merck mir freundlichst überlassenen Präparates zur Verfügung, das in seinen äußeren Eigenschaften den Angaben im Merckschen Index entsprach. Das Verhalten des Anästhesins zu demselben ist ein sehr eigentümliches. Zweifellos ist es unverdünnt imstande, eine gewisse Quantität Anästhesin beim Erwärmen zu lösen. Die Lösung bleibt erkaltet auch unverändert, leicht opak, jedoch scheidet sich eine geringe ölige Schicht davon ab. Schüttelt man durch, so bildet sich eine Emulsion, die sich beim Erwärmen klärt, beim Stehen allmählich wieder eine ölige Schicht abscheidet.

Es läßt sich eine etwa 10 $^0/_0$ige Lösung herstellen. Über die Natur dieser Lösung ist schwer ins klare zu kommen; beim Schütteln mit Äther geht das sulforicinsaure Natrium in den Ätherauszug über. Ob und wieviel Anästhesin in dem Verdampfungsrückstand enthalten ist, läßt sich durch physiologische Prüfung — ich benutzte zu allen Prüfungen meistens meine Lippenschleimhaut, mitunter auch das Kaninchenauge — nicht gut feststellen, da auch der Verdampfungsrückstand des Äther-

[1]) Siehe Fußnote 3 auf voriger Seite.

[2]) 1916, Nr. 555 und 556, **216**, **305**. Den Separatabdruck verdanke ich der Güte des Verfassers.

auszuges des Präparates ohne Anästhesinzusatz stark brennend und die Empfindlichkeit abstumpfend wirkt.

Verdünnen läßt sich die erwähnte Lösung nicht, es fällt sehr bald Anästhesin aus. Es liegt auf der Hand, daß diese Verhältnisse und die Eigenschaften der Substanz selbst eine therapeutische Verwendung als Lokalanästheticum ausschließen.

Da nun meine Bemühungen, das Anästhesin in eine wasserlösliche Form zu bringen, gescheitert waren, dachte ich daran, daß man in manchen Fällen, so z. B. bei Pharynx-Katarrh mit sehr gesteigerter Empfindlichkeit, die oft zu äußerst quälendem Husten führt, auch mit einer Emulsion auskommen könnte. Emulsionen des Anästhesins sind in Rezeptformeln vielfach angegeben, indessen sind sie kaum als solche anzusehen, da Anästhesin sich in fetten Ölen nur unbedeutend löst. Die Herstellung von Emulsionen ist aber auf einem Umwege möglich: es gibt eine Anzahl von Verbindungen, die Anästhesin lösen und sich mit Olivenöl oder Mandelöl mischen lassen. Emulgiert man eine dieser Mischungen mit Wasser und einigen Tropfen Seifenlösung — in den meisten Fällen reicht auch ein Tropfen Natriumcarbonatlösung aus, da die Öle meistens etwas freie Fettsäure enthalten —, so läßt sich auf diesem Wege eine mehr oder weniger haltbare Emulsion herstellen, die das Anästhesin in feinster Verteilung enthält. Geprüft wurden: Pfefferminzöl, Zimtöl, Nelkenöl, Benzylalkohol, Benzaldehyd, Anisol. Alle diese lösen Anästhesin. Die Versuche wurden so angestellt, daß zu der Lösung ein gleiches Volumen Olivenöl hinzugesetzt und durch Schütteln gemischt wurde, dann etwa das doppelte Volumen Wasser, einige Tropfen Natriumcarbonatlösung und geschüttelt. In allen Fällen bildete sich eine Emulsion, aber sie war von sehr verschiedener Haltbarkeit, am besten war die mit Anisol und Pfefferminzöl. Anisol ist wegen des starken Brennens, das es auf Schleimhäuten erregt, wohl ausgeschlossen, Pfefferminzöl wäre eher brauchbar. Die Emulsion mit demselben war nach etwa 5 Wochen noch ziemlich unverändert, nach mehr als 5 Monaten war der Befund folgender: weiße Emulsion, darunter Wasser, beim Schütteln stellt sich die Emulsion vollständig wieder her; eine Ausscheidung von Anästhesin wurde nicht beobachtet. Da Ob. menth. schon an sich auf Schleimhäute anästhesierend wirkt, wäre

eine solche Emulsion vielleicht brauchbar, jedoch möchte ich keinerlei Verantwortung hierfür übernehmen.

Da das Anästhesin in Alkohol sehr leicht löslich ist, könnte in geeigneten Fällen vielleicht auch eine solche Lösung bzw. ein Zusatz von Anästhesin zu alkoholischen Lösungen Anwendung finden. Auch als Zusatz zu dem sogenannten Benegran von Salomon[1]), das, 90^0 heiß, auf Wunden aufgetragen wird und doch wohl Schmerzen verursacht, würde es sich vielleicht eignen, nur müßte natürlich viel mehr zugesetzt werden, als die von Salomon für den Zusatz von Medikamenten freigegebenen 3 $^0/_0$. Doch ich möchte mich nicht weiter in Einzelheiten vertiefen — es ist vielleicht schon zu sehr der Fall gewesen —, es könnte sonst scheinen, als ob ich für das Anästhesin Propaganda machen wollte. In gewissem Sinne ist das ja auch der Fall, indessen könnte doch jemand auf den Verdacht kommen, daß diese Propaganda auch materielle Interessen verfolgt, während sie natürlich nur ideeller Natur ist.

Ich komme nun auf den in der Einleitung erwähnten Punkt zurück, daß sich die Sachlage seit Beginn meiner Versuche etwas geändert hat; diese Äußerung bezieht sich auf zwei inzwischen bekannt gewordene Verbindungen, über die ich mich nur ganz kurz äußern möchte.

1. Es ist R. Wolffenstein, A. Loewy und M. Bachstetz[2]) gelungen, aus dem Trichlorbutylalkohol, der ein ausgesprochenes Schlafmittel ist, eine Verbindung herzustellen, die keine Allgemeinwirkung mehr hat, dagegen lokal anästhesierend wirkt und in Wasser löslich ist. Aus dem Trichlorbutylalkohol erhielten die genannten Autoren nämlich durch Veresterung mit Malonsäure einen sauren Malonsäureester, dessen Alkalisalze in Wasser löslich sind. Das Ammoniumsalz, das als „Toramin" in den Handel kommt, ist von E. Meyer[3]) zur Bekämpfung des Hustenreizes mit Erfolg angewendet worden. Weitere Publikationen sind mir nicht bekannt geworden, auch nicht, worauf es besonders ankommt, ob es zu subcutanen oder subdermalen Injektionen anwendbar ist, wozu es vermöge seiner neutralen Reaktion besonders geeignet wäre, oder ob seine

[1]) Berl. klin. Wochenschr. **1915**, Nr. 36.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **48**, 2038 1915.

[3]) Berl. klin. Wochenschr. **1915**, Nr. 33.

anästhesierende Wirkung für diesen Zweck doch nicht stark genug ist.

2. Morgenroth und Ginsberg haben systematisch die anästhesierenden Eigenschaften der höheren Homologe des Optochins untersucht und die außerordentlich starke anästhesierende Wirkung des Isoamylhydrocupreins hervorgehoben. Sein Mitarbeiter Tugendreich[1]) hat diese Wirkung weiter verfolgt und vor kurzem das Isoamylhydrocuprein (Eucupin) als lokales Anästheticum zur Behandlung von Geschwüren empfohlen. Die Base selbst ist in Wasser unlöslich, sehr leicht löslich das saure salzsaure Salz, indessen reagiert die Lösung desselben doch recht merklich sauer, dürfte also zu Injektionen nur in sehr verdünnten Lösungen geeignet sein. Ob eine volle Lösung des an den Anfang der Arbeit gestellten Problems: die Herstellung eines ungiftigen, wasserlöslichen, zur Infiltrationsanästhesie geeigneten Anästheticums durch diese Verbindung erreicht ist, müßte noch geprüft werden.

2. Isäthionyl-p-Aminobenzoesäure.

Beim Erhitzen von Anästhesin mit Isäthionsäure erhält man, wie ich bereits ausgeführt habe, nicht den gewünschten Ester, der nicht haltbar zu sein scheint, sondern unter Abspaltung der Äthylgruppe eine Verbindung des Isäthionsäurerestes mit p-Aminobenzoesäure, der ich den Namen Isäthionyl-p-Aminobenzoesäure gegeben habe von der summarischen Formel $C_9H_{11}NSO_5$, der wahrscheinlichen Konstitutionsformel

$$C_6H_4 \langle \begin{matrix} NSO_2C_2H_4OH \\ COOH \end{matrix} .$$

Wegen der Darstellung der Säure, Eigenschaften der Salze, Analysen, verweise ich auf meine erwähnte Arbeit in den Berichten der Deutsch. chem. Gesellsch.[2]). Es sei hier nur noch einiges über das Verhalten des Na-Salzes zu Fällungsmitteln nachgetragen, das für den Nachweis etwa unveränderter in den Harn übergegangener Säure in Betracht kommt.

Eine 2 $^0/_0$ige Lösung der Säure, genau mit Natriumcarbonat neutralisiert, zeigt folgendes Verhalten:

[1]) Berl. klin. Wochenschr. **1916**, Nr. 10.

[2]) **49**, 1376, 1916.

1. Sättigung mit Kochsalz: 0.

2. Alkohol. Mehrfaches Volumen: 0. Beim Eingießen der alkoholischen Lösung in das mehrfache Volumen Äther: anscheinend flockiger Niederschlag, der jedoch aus Krystallnädelchen des Na-Salzes besteht.

3. Salzsäure: keine Farbenveränderung.

4. Baryumchlorid: 0.

5. Kalialaun: 0.

6. Zinksulfat: 0.

7. Zinkacetat: Trübung, dann schwacher Niederschlag.

8. Kupfersulfat: 0.

9. Kupferacetat: Trübung, allmählich geringer flockiger Niederschlag.

10. Silbernitrat: 0; nach Zusatz von Ammoniak und Natronlauge beim Erhitzen, schöner zusammenhängender Silberspiegel.

11. Quecksilberchlorid: 0.

12. Mercuriacetat: Sofort dicker Niederschlag.

13. Bleiessig: Trübung, allmählich Niederschlag.

14. Klare ammoniakalische Bleiacetatlösung; dicker Niederschlag.

15. Ferrichlorid: Niederschlag.

16. Ferroammonsulfat: leichte Trübung.

Das Verhalten der Säure bzw. des Na-Salzes im Organismus ist nach verschiedenen Richtungen von Interesse. Es wäre möglich, daß sie den Organismus unverändert passiert, andrerseits ebenso möglich, daß sie gespalten wird. Für die letztere Annahme ist eine Stütze im Verhalten des Körpers insofern vorhanden, als sie gegen Säure ziemlich beständig ist, durch Eindampfen der mit Na_2CO_3 übersättigten Lösung auf dem Wasserbad dagegen gespalten wird. Die dabei wiederentstehende p-Aminobenzoesäure ist leicht nachzuweisen, indem man die Lösung nach dem Eindampfen mit Salzsäure ansäuert und die dabei ausfallende unveränderte Säure abfiltriert, das Filtrat mit Natriumcarbonat alkalisiert und mit Essigsäure ansäuert, oder einfacher das salzsaure Filtrat mit Natriumacetat versetzt: nach einigem Stehen scheidet sich die p-Aminobenzoesäure vom Schmelzpunkt 186^0 krystallinisch aus. Man kann auch die Krystallisation der salzsauren Aminobenzoesäure, die sich in großen Krystallblättern ausscheidet, abwarten und

diese dann mit Natriumacetat in Aminobenzoesäure überführen. Durch Trypsin ist die Säure allerdings nicht spaltbar, es kommen aber auch als möglicherweise spaltendes Agens die Darmbakterien in Betracht, namentlich beim Kaninchen.

Es fragt sich, wie man den Eintritt der Spaltung am besten erkennt. Für das eine Spaltungsprodukt, die Isäthionsäure, liegt die Sache sehr einfach. Ich habe früher gefunden[1]), daß nach Einführung von Isäthionsäure als Na-Salz per os, ebenso wie nach Einführung von Taurin, im Harn regelmäßig Thiosulfat auftritt, der Nachweis desselben ist also gleichbedeutend mit dem Nachweis der Spaltung. Dabei ist nur das Futter des Tieres zu berücksichtigen: man muß ein solches wählen, bei dem der Harn an sich zuverlässig frei ist an Thiosulfat. Das ist bei Fütterung mit Mohrrüben der Fall, während bei Fütterung mit Weißkohl mehr oder weniger Thiosulfat auftritt.

Weit schwieriger gestaltet sich der Nachweis der p-Aminobenzoesäure. Ellinger und Hensel[2]) erhielten nach Verfütterung von p-Aminobenzoesäure als Na-Salz im Harn bei Kaninchen Acetylaminobenzoesäure in wechselnder Ausbeute, im Maximum 30%, ein neues Beispiel der nicht eben häufigen Acetylierung einer Verbindung im Tierkörper. Über das Schicksal des größeren Restes haben Ellinger und Hensel, soweit ich sehen kann, nichts Bestimmtes festgestellt, nur in Tabelle 10 in einem Versuch, in dem die Ausbeute an Acetylaminobenzoesäure sehr gering war (Fütterung mit Rüben), findet sich in der Rubrik „Andere Substanzen“ die Notiz „0,33 g ohne Schmelzpunkt, also wohl Uraminobenzoesäure“. Zu vermuten ist, daß der größere Teil der p-Aminobenzoesäure sich ebenso verhalten wird, wie die Metaminobenzoesäure, an der ich[3]) seinerzeit die Uraminosäurebildung gefunden habe. Nur ein Teil der Metaminobenzoesäure geht in Uraminobenzoesäure über, der größere wird als unveränderte m-Aminobenzoesäure und als Aminohippursäure ausgeschieden.

Leider verfüge ich zur Zeit nur über einen Versuch an einem Kaninchen, doch gibt dieser wenigstens über die Hauptfrage eine bestimmte Entscheidung am Pflanzenfresser. Versuche

---

[1]) Virchows Archiv **66**.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **91**, 21, 1914.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **7**, 113, 1882/83.

an Hunden sollen ausgeführt werden, wenn mir solche wieder zur Verfügung stehen, ebenso weitere Versuche an Kaninchen.

Ein Kaninchen von 2200 g erhielt am 21. Februar 1915 bei Mohrrübenfütterung (500 g täglich) 0,8944 g der Säure als Na-Salz in Wasser gelöst mit der Schlundsonde in den Magen. Irgendwelche Symptome wurden nicht beobachtet, nur etwas verminderte Freßlust: von den vorgelegten 500 g Mohrrüben wurden nur 392 g gefressen.

Der Harn, durch geringen Wasser- und Essigsäurezusatz auf 400 ccm gebracht, gab mit Silbernitrat und nachfolgendem Zusatz von Salpetersäure in der früher beschriebenen Weise[1]) in mehreren Einzelproben Reaktion auf Thiosulfat. 100 ccm mit 10 ccm Salzsäure destilliert, gaben im Kühlrohr einen zwar schwachen, aber unzweifelhaften Anflug von Schwefel, der bei Mohrrübenfütterung niemals zu beobachten ist.

In 50 ccm wurden gefunden aus Gesamt-S 0,1438 g $BaSO_4$, in 100 ccm aus Gesamtschwefelsäure 0,1586 g.

Daraus berechnet sich für den ganzen Harn, ausgedrückt als $BaSO_4$

Gesamt-S	1,1504 $BaSO_4$
Sulfat-S	0,6344 „
also Neutral-S	0,516 g $BaSO_4$

Der Neutralschwefel beträgt somit 44,70 % des Gesamtschwefels.

Am 23. Februar fraß das Tier 500 g Mohrrüben wieder vollständig auf.

Der Harn mit Essigsäure und Wasser auf 500 ccm gebracht, gab keine Reaktion auf Thiosulfat, keinen Anflug von Schwefel im Kühlrohr beim Destillieren mit Salzsäure.

In 50 ccm wurden gefunden 0,058 $BaSO_4$ aus Gesamt-S, in 100 ccm 0,0902 $BaSO_4$ aus Sulfat-S.

Daraus berechnet sich für den ganzen Harn ausgedrückt als $BaSO_4$

Gesamt-S	0,580 $BaSO_4$
Sulfat-S	0,451 „
also aus Neutral-S . .	0,129 $BaSO_4$

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 89, 487, 1914 und 92, 96, 1914.

Der Neutralschwefel beträgt somit 22,1 % des Gesamtschwefels.

Die Differenz zwischen dem Fütterungstage und dem Normaltage beträgt für Gesamt-S 0,5704 = 0,0784 S; eingeführt sind mit dem Na-Salz 0,1163 S, somit $^2/_3$ der Säure resorbiert und durch den Harn in irgendeiner Form zur Ausscheidung gelangt, $^1/_3$ nicht nachweisbar. Dabei kommt aber in Betracht, daß die Ausscheidung sich vielleicht noch auf die nächsten 24 Stunden erstreckt hat, die nicht berücksichtigt sind.

Die Steigerung der Sulfatschwefelsäure beträgt als $BaSO_4$ 0,1834 g, die des Neutralschwefels, unter den in diesem Falle auch das Thiosulfat fällt, 0,387 g. Daraus geht hervor, soweit man aus einem Versuch überhaupt bindende Schlüsse ziehen kann, daß etwa $^2/_3$ des Schwefels der Säure zu Schwefelsäure oxydiert sind, $^1/_3$ in Thioschwefelsäure übergegangen resp. unangegriffen geblieben ist.

Die Aussicht, noch etwas über den nicht angegriffenen Anteil der Säure feststellen zu können, war unter diesen Umständen gering. Zur Untersuchung wurden die noch übrigen Reste des Harns etwas eingedampft, stark angesäuert und ausgeäthert, der Ätherauszug mit Natriumcarbonatlösung geschüttelt. Die abgetrennte alkalische Lösung wurde wieder angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Der Ätherauszug ergab beim Verdunsten nur eine sehr geringe Quantität einer bei 183° schmelzenden Säure. Diese konnte wohl unveränderte p-Aminobenzoesäure sein, deren Schmelzpunkt in reinem Zustand bei 186 bis 187° liegt, es konnte aber auch Hippursäure sein, die denselben Smp. hat. Da beide Säuren N-haltig sind, war eine Entscheidung bei der geringen Quantität nicht möglich.

Festgestellt ist also über das Schicksal der Isäthionylaminobenzoesäure beim Kaninchen bei innerer Verabreichung, daß sie zum größten Teil gespalten wird. Die aus der Spaltung resultierende Isäthionsäure wird größtenteils zu Schwefelsäure oxydiert, zum kleineren Teil bildet sie Thioschwefelsäure.

Über den aromatischen Teil der gespaltenen Säure läßt sich nichts Bestimmtes sagen, es ist möglich, daß er unverändert zur Ausscheidung gelangt, da der Schmelzpunkt der durch

Ätherextraktion erhaltenen Säure mit dem der p-Aminobenzoesäure übereinstimmt. Ob die Steigerung des Neutralschwefels nur auf dem Gehalt des Harns an Thiosulfat beruht oder auch auf Ausscheidung unveränderter Isäthionyl-p-Aminobenzoesäure, ist gleichfalls nicht zu sagen, wird auch schwerlich überhaupt feststellbar sein, da es uns an Methoden zur korrekten quantitativen Bestimmung des Thiosulfats im Kaninchenharn mangelt. Vielleicht könnten längere Versuchsreihen, in denen der Schwefelgehalt des beim Erhitzen des Harns mit Sibernitrat sich bildenden Niederschlages vor und nach der Verabreichung der Substanz festgestellt wird, Aufschluß geben.

Über essigsaures Wismut.

Von

E. Salkowski.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 26. November 1916.)

Vor kurzem habe ich mitgeteilt, daß wasserstoffsuperoxydhaltiger Eisessig, wie manche andere Metalle, so auch Wismut, ziemlich leicht auflöst.

Obwohl Wismut danach also ein essigsaures Salz bildet, ist Wismutacetat in dem, alle bekannten organischen, analysierten Verbindungen enthaltenden Handbuch von Beilstein nicht erwähnt, und auch in der Literatur nach Beilstein[1]) findet es sich nirgends angegeben. Dies hat mich veranlaßt, mich mit dem Gegenstand zu beschäftigen, einerseits um die Lücke in biochemischem Interesse auszufüllen, andererseits in der Idee, daß sich vielleicht dabei etwas für den Nachweis der Essigsäure, die ja im Organismus vorkommt, oder für die therapeutische Anwendung Beachtenswertes ergeben könnte.

Um eine Vorstellung von dem Grade der Löslichkeit zu geben, führe ich einige der Versuche an.

5 g mittelfein gepulvertes Wismut erforderte zur einigermaßen vollständigen Lösung, die nur in der Hitze zu bewirken ist, 85 ccm Eisessig und 40 ccm $30^0/_0$iges Wasserstoffsuperoxyd. Diese wurden nicht von vornherein angewendet, ursprünglich vielmehr nur 40 ccm eines Gemisches gleicher Volumina Eisessig und Wasserstoffsuperoxyd, die Verflüchtigung beider Agentien beim Erhitzen machte aber ein Nachgeben von Lösungsmittel und Oxydationsmittel erforderlich. Die erhaltene Lösung

---

[1]) Chemiker-Zeitung **1916**, Nr. 61/62.

war nicht absolut klar, wurde es aber beim Filtrieren, während ca. 0,7 g ungelöst auf dem Filter blieben.

Natürlich hängt die Löslichkeit, oder richtiger gesagt, die Leichtigkeit, mit der die Lösung erfolgt, von dem Grade der Verteilung des Wismuts ab. Als 5 g äußerst fein gepulvertes Wismut mit 50 ccm Eisessig und 20 ccm 30⁰/₀igem H_2O_2 erhitzt wurde, löste sich das Wismut beim Erhitzen stürmisch, jedoch unter Bildung einer weißen Ausscheidung, die sich nach Zusatz von weiteren 30 ccm Eisessig löste; nur ein minimales, etwas gröberes Partikelchen vom Wismut blieb ungelöst. Die Lösung zeigte einen weißlichen Schimmer, wurde jedoch beim Filtrieren durch ein nicht angefeuchtetes Filter ganz klar. Die Lösung verträgt einigen Wasserzusatz, ohne sich zu trüben.

Auf dem Wasserbad entsprechend eingedampft, erstarrt die Lösung beim Abnehmen vom Wasserbad, zum Teil schon auf demselben, zu einem Krystallbrei. Insoweit die Lösung am Rande eintrocknete, hinterließ sie in der Glasschale — es wurde stets in solchen gearbeitet — einen kreidig-weißen Abdampfsrückstand, augenscheinlich unter Verlust von Essigsäure. Beim Sammeln der Krystalle darf man natürlich nichts vom Rande mitnehmen.

Etwas umständlicher, jedenfalls aber billiger, ist die Darstellung aus Wismuthydroxyd, das durch Eingießen einer möglichst wenig freie Salpetersäure enthaltenden Lösung von Wismutsubnitrat in Salpetersäure in starkes Ammoniak, Auswaschen zuerst durch Dekantieren, dann auf dem Filter bis zu völligem oder fast völligem Verschwinden der Reaktion mit Neßlerschem Reagens im Waschwasser erhalten wurde. Anfangs wurde das Hydroxyd an der Luft getrocknet und verrieben, die Lösung in Eisessig beim Erhitzen erfolgt aber etwas schwierig, es macht sich dabei auch ein sehr unangenehmes Stoßen bemerkbar. Später wurde daher das Hydroxyd in feuchtem oder halbfeuchtem Zustand angewendet, die Gegenwart von Wasser schadet dabei nichts, wie ich anfangs gefürchtet hatte.

Nach dem Abpressen zwischen Filtrierpapier erscheint das Wismutacetat in farblosen, glänzenden Schuppen, sehr ähnlich der Borsäure. Einmal wurden beim Stehenlassen einer aus Wismutmetall erhaltenen und nicht eingedampften Lösung in einem mit Chlorcalcium und Kalihydrat beschickten Exsiccator

größere Krystalle erhalten: glashelle, wohl ausgebildete, ziemlich dicke und sehr harte sechsseitige Tafeln, teils isoliert, teils zu Rosetten vereinigt. Sie werden beim Liegen an der Luft undurchsichtig, ob durch Verlust an Krystallwasser oder — was wahrscheinlicher ist[1]) — durch Verlust von Essigsäure, ist nicht untersucht, dürfte übrigens auch schwer zu entscheiden sein. Die folgenden Angaben beziehen sich nicht auf diese Krystalle, sondern auf die beim Erkalten konzentrierter Lösungen erhaltenen.

Essigsaures Wismut ist, soweit ich sehen kann, bisher nicht analysiert und nicht beschrieben[2]), vielleicht wegen gewisser Schwierigkeiten, welche die Analyse bietet — ich habe daher die Gelegenheit benutzt, das Salz zu analysieren. Bei einem bestimmten Vorgehen wurden für den Wismutgehalt Zahlen gefunden, die auf die Zusammensetzung $Bi(C_2H_3O_2)_3$ gut stimmten. Das „Vorgehen" bezieht sich einerseits auf den Zustand, in dem die Verbindung analysiert wird, andererseits auf die Ausführung der Analyse. Richtige Zahlen wurden nur erhalten, wenn das Salz unmittelbar nach der Darstellung — zwischen wiederholt gewechselten Filtrierpapierunterlagen gut abgepreßt — zur Analyse genommen wurde. Selbst die Aufbewahrung in Glasstöpselgläsern konnte die Abgabe von Essigsäure, die sich durch den stechenden Geruch beim Öffnen des Glases — genügende Annäherung vorausgesetzt — verrät, nicht verhindern. Die Wismutbestimmung fiel in solchen Präparaten etwas zu hoch aus. Ferner war es nicht möglich, beim direkten Erhitzen des krystallisierten Salzes ein Fortreißen von Wismutoxyd mit den Dämpfen zu verhindern. Es erwies sich als not-

[1]) Siehe die Ausführungen weiter unten.

[2]) Im „Beilstein" ist Wismutacetat, wie gesagt, nicht erwähnt. In dem alten Handbuch der Organischen Chemie von Gmelin aus dem Jahre 1848 fand ich Bd. 1 S. 640 folgende Angabe, die ich wörtlich wiedergebe. „Essigsaures Wismutoxyd. Schießt aus einem warmen Gemisch von salpetersaurem Wismutoxyd und konzentriertem essigsaurem Kali beim Erkalten in talkartigen Blättchen an. Morveau (Encycl. méthod). Die Essigsäure benimmt der salpetersauren Wismutlösung die Eigenschaft, durch Wasser gefällt zu werden. Berzelius (Lehrbuch)." Eine Analyse ist nicht angeführt. Da dies bei allen essigsauren Salzen der Fall ist, so ist daraus wohl mit Sicherheit zu schließen, daß eine solche nicht vorlag.

wendig, die Verbindung vorher einige Stunden bei 125 bis 130° im Trockenschrank zu erhitzen. Dabei stellte sich die eigentümliche Erscheinung ein, daß das Gewicht konstant wurde und weiteres Erhitzen bei höherer Temperatur, 140° und darüber, daran nichts änderte, so daß also der bei 125 bis 130° erhaltene Rückstand einen bestimmten resp. innerhalb enger Grenzen schwankenden Prozentsatz des normalen Salzes ausmachte.

Bezüglich der Ausführung der Wismutbestimmung als Oxyd bemerke ich noch folgendes. Der durch Glühen erhaltene Rückstand enthält, wie für die Wismutsalze organischer Säuren bekannt ist, stets Metall, mitunter in solcher Menge, daß das Metall zu Kügelchen zusammenschmilzt. Das geschieht namentlich bei starkem Erhitzen und ist deshalb störend, weil es bei der nachfolgenden Behandlung mit Salpetersäure leicht zu Verlusten durch Spritzen führt. Man darf also nur gelind erhitzen. Ich verfuhr daher so, daß ich den bei schwachem Erhitzen erhaltenen Rückstand in Salpetersäure von 1,2 D löste, die Lösung in dem Tiegel zuerst auf dem Wasserbad stundenlang eindampfte, dann auf einem Asbestteller so lange bei sehr kleiner Flamme erhitzte, bis keine Dämpfe mehr entwichen, endlich auf freiem Feuer zuerst schwach, dann stark glühte. Wiederholt habe ich den geglühten Rückstand aufs neue in Salpetersäure gelöst — in diesem Falle kann man unbedenklich starke Salpetersäure verwenden — und die ganze Prozedur wiederholt: das Gewicht blieb absolut unverändert.

Nachfolgende kleine Tabelle enthält die bei der Analyse frischer Präparate erhaltenen Werte.

Nummer des Versuches	Angewendetes Wismutacetat	Gewicht des Trockenrückstandes bei 125 bis 130°	Erhaltenes Wismutoxyd
1	0,4282 [1])	0,3132	0,2560
2	0,4387 [2])	0,3222	0,2643
3	0,5362 [2])	0,3984	0,3244

[1]) Aus Hydroxyd.

[2]) Aus Metall. — Das mir zur Verfügung stehende enthielt etwas Kupfer, die Krystalle von Wismutacetat waren jedoch kupferfrei.

Daraus berechnen sich folgende prozentische Werte:

Nummer des Versuches	Wismutgehalt des Acetats %	Gewicht des bei 125 bis 130° erhaltenen Rückstandes %	Wismutgehalt dieses Rückstandes %
1	53,60	73,14	73,45
2	54,01	73,44	73,54
3	54,24	73,63	73,67
Mittel	53,95	73,40	73,55

Die nicht erhitzte Verbindung stellt augenscheinlich das normale Salz dar von der Formel $Bi(C_2H_3O_2)_3$, deren Wismutgehalt sich zu 54,03% berechnet. Damit stimmt die Mittelzahl sehr gut überein, hinreichend auch die in den einzelnen Versuchen erhaltenen.

Ehe ich auf den beim Erhitzen bei 125 bis 130° bis zum konstanten Gewicht erhaltenen Rückstand eingehe, möchte ich einige Belege für die im vorhergehenden gemachten Angaben über die leichte Zersetzlichkeit des normalen Acetats liefern, zunächst für die in Glasstöpselgläsern aufbewahrten aus $Bi(OH)_3$ dargestellten Präparate.

Nr. 4. 0,4626 g eines solchen gaben 0,3625 g Rückstand bei 125 bis 130° und 0,2948 g Wismutoxyd. Daraus berechnet sich ein Wismutgehalt von 57,13% statt 54,03%, das Gewicht des Rückstandes zu 78,36% statt 73,55%.

Nr. 5. 0,4842 (anderes Präparat) gab 0,3672 Rückstand bei 125 bis 130° = 75,84% statt 73,55%. Die Aufbewahrung während etwa 5 bis 6 Tage in einem Glasstöpselglas, das allerdings nur etwa zu 1/4 gefüllt war, hatte also genügt, um durch Verlust von Essigsäure den Wismutgehalt und dementsprechend die Quantität des beim Erhitzen erhaltenen Rückstandes um mehrere Prozente in die Höhe zu treiben.

Wie nicht anders zu erwarten war, tritt ein Verlust an Essigsäure auch ein beim Aufbewahren über Schwefelsäure im Exsiccator.

In dem eben erwähnten Versuch Nr. 4 nahm das Gewicht beim Aufbewahren während 9 Tagen um 0,0308 g = 6,36% ab. Auf die restierenden 0,4534 g berechnet betrug der nun-

mehr durch Erhitzen erhaltene Trockenrückstand 80,98 % statt 73,4 %.

Noch größer war die Gewichtsabnahme beim Aufbewahren in einem mit Chlorcalcium und Kalihydrat beschickten Exsiccator. Die im Versuch Nr. 5 angewendete Quantität verlor in 9 Tagen 0,0515 g = 11,13 %. Auf die restierenden 0,4111 g berechnet betrug der Wismutgehalt des Acetats 64,29 % statt 54,03 %, der bei 125 bis 130° erhaltene Rückstand 88,18 % statt 73,40 %.

Am größten war aber auffallenderweise der Gewichtsverlust beim Liegenlassen des normalen Acetats in dünner Schicht auf Papier ausgebreitet. 0,2901 eines Präparates, das 3 Wochen lang so aufbewahrt war, daß die Luft freien Zutritt hatte, verlor beim Erhitzen bei 125° nur 0,0027 g — vermutlich hygroskopisches Wasser —, der Trockenrückstand betrug also 99,53 %, der Wismutgehalt des Acetats 76,37 % statt 54,03 %.

Aus alledem geht hervor, daß man richtige Zahlen bei der Analyse nur erwarten kann, wenn man das Wismutacetat unmittelbar nach der Darstellung analysiert.

Was nun die beim Erhitzen auf 125 bis 130° erhaltene Verbindung anbetrifft, so lag es nahe, in ihr ein basisches Salz von der Zusammensetzung $BiO(C_2H_3O_2)$ zu sehen. Diese Formel erfordert 73,50 % Wismut, gefunden im Mittel 73,55 % — also eine fast völlige Übereinstimmung.

BiO spielt also die Rolle eines einwertigen Radikals, ebenso wie Uranyl die Rolle eines zweiwertigen, und man könnte wohl daran denken, diesem Radikal den Namen Bismutyl zu geben in Analogie mit dem Uranyl, wobei freilich der Unterschied ist, daß das Uranyl lösliche Salze bildet, während solche des „Bismutyls“, um diesen Ausdruck zu gebrauchen, nicht existieren oder wenigstens nicht bekannt sind.

Die Bildung des basisch-essigsauren Wismuts beim Erhitzen auf 125 bis 130° erfolgt augenscheinlich unter Abspaltung von Essigsäureanhydrid nach der Gleichung

$$Bi(C_2H_3O_2)_3 = BiOC_2H_3O_2 + C_4H_6O_3.$$

Danach berechnet sich das Gewicht des beim Erhitzen bleibenden Rückstandes zu 73,51 %, was mit dem gefundenen Mittel 73,40 % sehr nahe übereinstimmt.

Eine Verbindung von sehr annähernd demselben Wismutgehalt erhält man auch durch wiederholtes Abdampfen der essigsauren Lösung mit Wasser. Ein solcher Rückstand, in der Reibschale verrieben, im Exsiccator kurze Zeit getrocknet, gab folgende Zahlen:

1. 0,6764 g gab 0,5542 Bi_2O_3 = 73,46 % Bi,
2. 0,5446 g „ 0,4392 Bi_2O_3 = 73,91 % Bi.

Schließlich sei noch eine kleine nebenher gemachte Beobachtung erwähnt.

Erhitzt man ein wenig Wismutacetat auf einem Porzellantiegeldeckel, so bedeckt sich ein großer Teil desselben mit einem gelben Anflug von Wismutoxyd. Gibt man dem Tiegeldeckel eine senkrechte oder besser noch gegen die Flamme geneigte Stellung und hält ihn in die Flamme etwa in halber Höhe derselben, so macht sich eine sehr eigenartige Erscheinung bemerkbar. Der Beschlag wird, wie zu erwarten, im Kern der Flamme schwärzlich, behält im äußeren Teil der Flamme seine gelbe Färbung, so daß der Tiegeldeckel gelb und schwarz gestreift erscheint. Zieht man nun den Tiegeldeckel, nicht zu schnell, hin und her, so wechseln die Farben in der Art, daß der grauschwarze Streifen sofort gelb wird, sobald er sich außerhalb des Reduktionsraumes der Flamme befindet, und umgekehrt der gelbe im Reduktionsraum schwarz. Ebenso verhält sich natürlich der beim Verdampfen von ein wenig der essigsauren Lösung auf dem Tiegeldeckel erhaltene Rückstand. Es gibt wohl kaum eine bessere Versuchsanordnung, um die oxydierenden und reduzierenden Eigenschaften der Bunsen-Flamme zu demonstrieren, als diese, allerdings nur für einen kleinen Kreis von Zuschauern.

Gehen wir nun auf die beiden Fragen ein, ob sich aus dem geschilderten Verhalten des Wismutacetats eine Anwendung in der biochemischen Analyse oder in der Therapie ergibt, so läßt sich die erste Frage wenigstens nicht ganz verneinen.

Frischgefälltes Wismuthydroxyd, erhalten durch Eingießen einer Lösung von bas. salpetersaurem Wismut in möglichst wenig Salpetersäure — in Ammoniak und Auswaschen, löst sich im feuchten Zustand selbst in ganz verdünnter Essigsäure beim Erwärmen leicht auf. Dampft man diese Lösung auf dem

Wasserbad auch nur einmal zur Trockne ein, so erweist sich der zurückbleibende kreidig-weiße Rückstand so gut wie unlöslich in Wasser, nämlich in dem Grade, daß das Filtrat beim Einleiten von Schwefelwasserstoff kaum eine leicht gelbliche Färbung annimmt. Selbstverständlich gilt das nur für ganz kleine Mengen, um die handelt es sich ja aber auch beim Nachweis. Unter Umständen kann dieses Verhalten mit zur Charakterisierung der Essigsäure benutzt werden.

Was die therapeutische Anwendung betrifft, so hat das bas. essigsaure Wismut vor dem für die innerliche Anwendung wohl am meisten gebrauchten bas. salpetersauren Wismut den Vorzug, daß eine Nitritvergiftung, die bei dem salpetersauren Salz doch unter nicht näher bekannten Umständen gelegentlich eintreten soll, ganz ausgeschlossen ist. Ob es noch weitere Vorzüge hat, mag einstweilen dahingestellt bleiben; ich komme vielleicht noch einmal auf den Gegenstand zurück.

Nachschrift.

Nach Abschluß dieser Arbeit ist mir von befreundeter Seite mitgeteilt worden, daß das bas. essigsaure Wismutacetat „Bismutum subaceticum" in der pharmazeutischen Literatur, die mir naturgemäß ferner liegt, bereits erwähnt und zur Anwendung empfohlen worden ist.

In der Tat heißt es in „Mercks Jahresbericht" für 1915, S. 227:

„Bismutum subaceticum. — Nach einer von Frerichs ausgearbeiteten Methode hergestelltes Wismutsubacetat bildet ein weißes, sehr feines geruchloses und geschmackloses Pulver, das in Wasser unlöslich ist. Es besitzt die Formel $CH_3COOBiO$ und entspricht einem Gehalt von 73,5 % Wismut bzw. 81,9 % Wismutoxyd."

Danach ist kein Zweifel, daß es sich um eine mit meinem bas. essigsauren Wismut identische Verbindung handelt. Dieses Sachverhältnis konnte mich jedoch nicht von der Mitteilung meiner Beobachtungen abhalten oder zu Änderungen des Wortlautes veranlassen, um so weniger, als weder in dem Merckschen Referat, noch in dem von Merck zitierten Original[1]), wie ich mich überzeugt habe, irgendetwas über die

[1]) Frerichs, Apotheker-Zeitung 1915, Nr. 28.

Darstellung der Verbindung gesagt ist, außerdem aber meine Arbeit sich ja nicht allein mit dem basischen, sondern vorwiegend mit dem normalen Wismutacetat beschäftigt, das in der zitierten Mitteilung nicht erwähnt ist.

Auffallend ist, daß l. c. das Wismutsubacetat hauptsächlich zur äußeren Anwendung empfohlen, von der innerlichen nur gesagt wird: „Auch innerlich kann es wie andere Wismutverbindungen gebraucht werden", während ich gerade den Ersatz des bas. salpetersauren Wismuts innerlich durch das bas. essigsaure Salz für einen Fortschritt halten würde.

Blutnachweis in Mageninhalt, Faeces und Urin.

Von

I. Boas in Berlin.

(Eingegangen am 26. November 1916.)

Der Nachweis von Blutfarbstoff im Kot und Mageninhalt ist trotz der zahlreichen Methoden und Reaktionen, die uns hierfür zu Gebote stehen, noch immer stark umstrittenes Gebiet. Die Klinik verlangt möglichst einfach anzustellende, dabei aber hinreichend scharfe und zuverlässige Proben. Komplizierte Methoden haben wenig Aussicht auf allgemeine Verwendung.

Im Vordergrunde der Methodik steht der Nachweis des Kotblutes, da dieses diagnostische Schlüsse nicht bloß für einen bestimmten, sondern für alle Verdauungsabschnitte gestattet. Andererseits ist aber auch der Nachweis des Mageninhaltsblutes von großer Bedeutung, weil dieses ohne weiteres den Ort pathologischer Blutextravasate anzeigen kann. Da ferner in zahlreichen Fällen Veränderungen des Mageninhaltes in Verbindung mit Blutanwesenheit große diagnostische Wichtigkeit besitzen, so ist der Blutnachweis im Mageninhalt in unklaren Fällen nicht zu entbehren.

Von allen bekannten Blutnachweismethoden ist die spektroskopische unbedingt die zuverlässigste, namentlich seit wir mit der Darstellung des Hämochromogens ein typisches, leicht erkennbares Absorptionsspektrum gewonnen haben. Indessen sind der Verwendung des spektroskopischen Blutnachweises gewisse Grenzen gezogen, da seine Handhabung immerhin Übung und ein nicht überall zur Hand befindliches Instrument erfordert. Von hervorragenden Kennern und Förderern dieses Gebietes, wie O. Schumm, ist in seinen zahlreichen Publika-

tionen auf die für klinische Zwecke nicht immer genügende Empfindlichkeit des spektroskopischen Blutnachweises nachdrücklich hingewiesen worden.

Die zweite, wissenschaftlich unanfechtbare Methode, die Darstellung von Häminkrystallen aus bluthaltigen Faeces und aus bluthaltigem Mageninhalt, hat allen Untersuchern, die sich mit ihr beschäftigt haben, nur bei ganz starker, schon makroskopisch feststellbarer Blutanwesenheit gute Resultate ergeben, bei okkulten Blutungen dagegen und besonders bei minimalen Mengen läßt die Probe, unter den verschiedenen Modifikationen ausgeführt, im Stich.

Man ist daher, seit Weber im Jahre 1893 den ersten gangbaren Weg für den exakten klinischen Blutnachweis gezeigt, doch immer wieder zur Anwendung der katalytischen Methoden zurückgekehrt. Sämtliche hierzu empfohlenen Methoden haben Fürsprecher und Gegner gefunden. Das beweist schon, daß keine darunter allen Ansprüchen genügt. Mit der Methodik und Technik des Blutnachweises stehen und fallen aber die klinischen Schlußfolgerungen.

Ohne auf die Einzelheiten der den am meisten verbreiteten Blutnachweismethoden (Guajac, Aloin, Benzidin, Phenolphthalein u. a.) gegenüber erhobenen Einwände einzugehen, möchte ich in einigen wenigen Sätzen meine Erfahrungen über diese kurz im folgenden niederlegen.

1. Sämtliche gebräuchlichen katalytischen Methoden geben bei ausgesprochener Blutanwesenheit im Kot mit den allerverschiedensten Modifikationen übereinstimmend positive Resultate.

2. Dagegen beginnen die Differenzen bei sehr geringem Blutgehalt bzw. bei den Grenzfällen. Hierbei versagt die Webersche Guajac- bzw. die Aloinprobe, während die beiden anderen, besonders die Phenolphthaleinprobe, mehr oder weniger stark positiv ausfallen können. Zahlreiche vergleichende Untersuchungen mit den schwachen und den empfindlichen Proben sprechen dafür, daß die mit letzteren gewonnenen Ergebnisse die richtigen sind.

3. Andererseits unterliegt es keinem Zweifel, daß man schwache Reaktionsergebnisse mit der Benzidin- und erst recht mit der Phenolphthaleinprobe beobachten kann unter Be-

dingungen, die klinisch Blutanwesenheit mit großer Sicherheit auszuschließen gestatten. Hierbei müssen demnach Substanzen im Spiele sein, die Blutanwesenheit vortäuschen. Mit großer Wahrscheinlichkeit sind dies anorganische Oxydasen. Je feiner eine Blutprobe ist, um so größer die Aussicht, Oxydasereaktion allein ev. neben echten Blutoxydasen zu erhalten. Da eine einwandfreie quantitative Trennung anorganischer von Blutoxydasen bisher nicht bekannt ist, so kann das Nebeneinander beider leicht zu verhängnisvollen Irrtümern führen.

4. Den Extraktionsmitteln für den Blutfarbstoff im Kot und Mageninhalt kommt eine sehr erhebliche Bedeutung zu. Ein brauchbares Extraktionsmittel muß neben einer möglichst quantitativen Aufnahme des Blutfarbstoffes die Eigenschaft der Unlöslichkeit für andere organische oder anorganische Oxydasen besitzen. Mit Rücksicht hierauf ist die viel empfohlene essigsaure Ätherextraktion unbrauchbar, da sie nur einen geringen Teil des Blutfarbstoffes aufnimmt. Andererseits hat aber die Ätherextraktion den Vorteil, daß sie andere Oxydasen als Blutfarbstoff nur in geringem Umfange an sich reißt und durch wiederholtes Auswaschen des Äthers mit Wasser Oxydasespuren zu entfernen gestattet.

5. Das Kriterium einer brauchbaren Blutreaktion besteht nicht bloß in ihrer Feinheit, sondern daneben auch in dem Umstande, daß sie mit Faeces und Mageninhalt Gesunder bzw. bei sicherem Fehlen von Blutfarbstoff unbedingt und konstant negativ ausfallen muß.

Mit Rücksicht darauf, daß die alte Webersche Reaktion der Forderung an Empfindlichkeit keineswegs entspricht, die im übrigen ausgezeichnete „verbesserte Webersche Probe" nach Schumm für klinische Zwecke zu kompliziert und mit einem allzu großen Aufwand von Alkohol und Äther belastet ist, habe ich versucht, zunächst die Schärfe der Guajacprobe so zu steigern, daß sie billigen Ansprüchen an Exaktheit und Feinheit nunmehr entsprechen dürfte.

Das Prinzip dieses Verfahrens ist durch Schaer[1]) bereits im Jahre 1898 beschrieben worden und besteht darin, den Blutfarbstoff mittels gesättigter Chloralhydratlösungen aus bluthaltigen Substanzen möglichst quantitativ zu extrahieren.

[1]) Arch. d. Pharm. 236, Heft 6, 1898.

Schaer bediente sich hierzu einer 60- bis 70%igen wäßrigen oder ätherischen Chloralhydratlösung. Auch R. Mauch[1]) rühmt die Anwendung gesättigter Chloralhydratlösungen zum Blutnachweis und weist ferner als Vorzug des Verfahrens darauf hin, daß für den Blutfarbstoff und für das Guajacharz ein und dasselbe Lösungsmittel angewandt werden kann. Endlich hat auch Rossel[2]) die von Schaer empfohlene Extraktionsmethode für den forensischen Blutnachweis angewandt und beschreibt sie in folgender Weise:

Die auf Blut verdächtigen Substanzen werden, falls sie sauer oder alkalisch reagieren, zunächst neutralisiert, sodann getrocknet, zerkleinert und wenn möglich pulverisiert. Sind sie fetthaltig, so muß das Fett durch Extraktion mit Äther (Soxhletscher Extraktionsapparat) vorher entfernt werden. Sodann wird die zerkleinerte Masse mit Eisessig digeriert und doppeltes Volumen einer ätherischen Chloralhydratlösung zugefügt und kräftig geschüttelt. Hierbei geht der Blutfarbstoff bis auf Spuren in die Ätherlösung über. Waschen des Äthers mit dem halben Volumen destillierten Wassers. Der Äther wird nun abdestilliert, der Rückstand mit Natronlauge genau oder bis auf schwach saure Reaktion neutralisiert. Das sich dabei bildende Chloroform wird auf dem Wasserbade verjagt. Der Blutfarbstoff fällt in der neutralisierten Lösung aus und wird durch ein Filter filtriert. Zu Täuschungen führende Substanzen, die etwa noch vorhanden sein könnten (Eisensalze, Nitrite usw.), werden auf diese Weise vom Blutfarbstoff getrennt. Dann wird mit destilliertem Wasser ein- bis zweimal ausgewaschen. Der Blutfarbstoff wird sodann mit essigsäurehaltigem Äther aufgenommen und in bekannter Weise die Guajac- oder Aloinreaktion vorgenommen.

Ich habe das Schaersche Verfahren für den klinischen Blutnachweis ausgearbeitet und mich davon überzeugt, daß es auch hierfür recht brauchbare Resultate liefert. Man kann sich hierzu sowohl der konzentrierten ätherischen als auch der alkoholischen Chloralhydratlösungen bedienen[3]). Einen wesent-

---

[1]) Über physikalisch-chemische Eigenschaften des Chloralhydrats. Inaug.-Diss., Straßburg 1898, S. 64.

[2]) Arch. f. klin. Med. 76, 505, 1903.

[3]) Wäßrige Lösungen eignen sich weniger, da sie sehr schlecht filtrieren.

lichen Unterschied zwischen beiden habe ich nicht feststellen können. Immerhin scheint mir die Anwendung des alkoholischen Extraktes eine etwas größere Ausbeute an Blutfarbstoff und demnach distinkteren Reaktionsausfall der Guajacprobe zu liefern.

Ob man sich nun der einen oder anderen Lösung bedient, die Schärfe der Guajacprobe wird gegenüber sämtlichen mir bisher bekannten Modifikationen derselben hierbei ganz erheblich gesteigert. Meine wesentlichen Erfahrungen beziehen sich übrigens auf die Chloralhydratalkoholmethode, mit der ich mehrere Hunderte von Untersuchungen im Laufe der letzten Monate angestellt habe.

Statt der üblichen Guajacharzlösungen habe ich mich in der letzten Zeit fast ausschließlich der Guajaconsäure (Merck) bedient, die zuerst von Bolland[1]) als Ersatz des Guajacharzes empfohlen, später auch von J. Rothschild[2]) angewandt wurde. Obgleich der letztgenannte Autor keinen wesentlichen Unterschied zwischen beiden Präparaten finden konnte, möchte ich doch auf Grund zahlreicher Kontrolluntersuchungen, die im einzelnen anzuführen überflüssig sein dürfte, der Guajaconsäure entschieden den Vorzug geben, da man mit dieser zweifellos oft schärfere Farbenreaktionen erhält als mit Guajacharz. Auch ist es mir vorgekommen, daß einzelne Guajacharzsorten mit H_2O_2 allein schon Bläuung hervorrufen, was bei Anwendung der Guajaconsäure niemals der Fall ist. Von der Guajaconsäure pflege ich eine kleine Messerspitze in der weiter unten angegebenen Lösung zu verwenden. Nach Bollands Angaben sollen sich übrigens alkoholische Guajaconsäurelösungen lange Zeit unzersetzt halten.

Die Probe wird im einzelnen in folgender Weise angestellt:

Zu einem etwa kirschgroßen Faecesfragment werden 20 Tropfen Eisessig und allmählich unter sorgfältigem Umrühren in der Porzellanschale 5 bis 10 ccm der 70 %igen alkoholischen oder ätherischen Chloralhydratlösung zugefügt, bis das Ganze eine homogene dünnflüssige Konsistenz angenommen hat. Sodann nimmt man eine Messerspitze reine

[1]) Zeitschr. f. anal. Chem. 46, 621.

[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 18

Guajaconsäure (Merck), löst in 2 ccm der ebengenannten Chloralhydratlösung, setzt 20 Tropfen 3%igen H_2O_2 und einige Tropfen Alkohol bis zur klaren Lösung hinzu. Der Stuhlextrakt wird nun in die Lösung filtriert. Bei Anwesenheit von Blutfarbstoff zeigt sich schon bei den ersten Tropfen zuerst am Boden eine deutliche Blaufärbung, die sich allmählich auf die ganze Flüssigkeit überträgt. Die Blaufärbung hält sich längere Zeit konstant. Bei sehr minimalem Blutgehalt („Grenzfälle") beobachtet man einzelne blaugefärbte Partien nur beim Einfließen, während beim Umschütteln die Gesamtflüssigkeit eine grüne oder braungrüne Nuance aufweist. Besser noch kann man in solchen Grenzfällen sich von der Anwesenheit von Blutspuren überzeugen, wenn man die Reaktion im Schälchen anstellt, und zwar so, daß man das Extrakt allmählich in das mit der oben beschriebenen Guajacon-H_2O_2-Lösung langsam zutröpfeln läßt. Man kann dann oft viel deutlicher die Anwesenheit blauer Zonen feststellen. Ist man über die Reaktion in Zweifel, so empfiehlt es sich, die Faeces zunächst mit Alkohol und Äther gründlich zu verreiben, im Scheidetrichter auszuschütteln, nach Dekantieren des Alkoholäthers, die Faeces direkt im Scheidetrichter mit 20 Tropfen Eisessig zu versetzen, Chloralalkohol hinzuzufügen und weiter, wie oben angegeben, zu verfahren. Bei vollkommenem Fehlen von Blutfarbstoff tritt überhaupt keine Bläuung, sondern eine reine Grünfärbung des Gemisches ein. Aus der Schnelligkeit und Intensität, mit der die Blaufärbung vor sich geht, kann man einen ungefähren Schluß auf den Blutfarbstoffgehalt des Objektes ziehen.

Leider ist die Chloral-Alkoholextraktion nicht für den Mageninhalt verwendbar. Man kann sich nämlich leicht davon überzeugen, daß sicher blutfreier Mageninhalt, in der oben erwähnten Weise extrahiert, bereits eine mehr oder weniger deutliche Himmelblaufärbung ergibt. Der Grund hierfür konnte einfach darin gefunden werden, daß bereits fein zerriebenes Weißbrot, d. h. ein Gemisch von Weizen- und Roggenmehl, wie wir es jetzt in der Kriegszeit verwenden, mit Eisessig und Chloralalkohol oder auch Chloraläther extrahiert, eine intensive Guajacreaktion zeigt. Dagegen erhält man bei Extraktion mit Eisessig-Alkohol ebenso auch wie mit Eisessig-Äther keine Spur

von Blaufärbung. Für den Blutnachweis im Mageninhalt erweist sich daher der Auszug mit Eisessig-Alkohol, wie ich auch an zahlreichen Untersuchungen bluthaltiger Mageninhalte beobachtet habe, für die Anstellung der Guajac- oder noch besser der Guajaconprobe als die geeignetste und empfindlichste Methode des Blutnachweises im Mageninhalt.

Als außerordentlich empfindlich hat sich die Modifikation auch für die Untersuchung von Blutfarbstoff im Harn erwiesen. Im allgemeinen scheint für diese die Benzidinprobe in der letzten Zeit das meistverwendete Verfahren zu sein. Ohne den Wert der Benzidinprobe für diese Zwecke irgendwie leugnen zu wollen, möchte ich doch betonen, daß die Behandlung bluthaltigen Harnes mit Eisessig-Chloralalkohol noch bei minimalstem Blutgehalt eine ausgesprochene deutliche Zonenreaktion mit Guajacon-H_2O_2 erkennen läßt. Meine Erfahrungen beziehen sich allerdings nur auf künstlichen Blutzusatz und erfordern weitere Nachprüfungen mit nativem bluthaltigen Harn. Bei meinen Untersuchungen bin ich so vorgegangen, daß ich zu dem mit geringsten Blutmengen versetzten Harn einfach 20 Tropfen Eisessig und 1 bis 2 ccm Chloralalkohol in der mehrfach genannten Konzentration zufügte, wiederholt schüttelte und das meist etwas trübe Gemisch in die wiederholt erwähnte Guajacon-H_2O_2-Lösung nach Zusatz einiger Tropfen Alkohol vom Rande her zufließen ließ. Man erhält unter diesen Umständen noch bei einem Blutgehalte von 1:100000 eine ausgesprochene blaue Zonenreaktion, während, wie Schumm[1]) und Rothschild[2]) angeben, bei Extraktion bluthaltigen Harns mit Eisessig-Äther die Grenze der Empfindlichkeit schon bei 1:16000 liegt.

Trotz der großen Schärfe, welche die Guajacprobe durch die genannte Modifikation für den Blutnachweis speziell der Faeces gewonnen hat, erscheint unter gewissen Umständen eine Kontrollreaktion unerläßlich. Wer nämlich viele Erfahrungen über den koprologischen Blutnachweis besitzt, wird die Beobachtung gemacht haben, daß selbst bei den zuverlässigsten Reaktionen gelegentlich Zweifel über positiven oder negativen

[1]) Über den Nachweis von Blut und Blutfarbstoff in Sekreten und Exkreten. Berlin u. Wien 1908, S. 7.

[2]) l. c.

Ausfall auftauchen können. Solche Zweifel kommen, wie kaum erwähnt zu werden braucht, bei intensivem Blutgehalt so gut wie nie vor. Bei minimaler Blutanwesenheit dagegen können schon kleine Änderungen der Technik das Resultat fälschen. Zeigt die Kontrollreaktion mit anderen Proben ein abweichendes Resultat, so kann dann, wie ich oft genug beobachtet habe, die nochmalige Vornahme der Probe, unter allen Kautelen angestellt, eine Übereinstimmung beider ergeben. Hierbei ist allerdings Voraussetznng, daß die zum Vergleich herangezogene Reaktion ihrerseits, was Schärfe und Zuverlässigkeit betrifft, absolut einwandfrei sein muß.

Als brauchbare Kontrollreaktion hat sich mir in neuester Zeit die Thymolphthaleinprobe erwiesen. Die genannte Probe ist im Grunde genommen nichts weiter als eine Modifikation, zugleich aber auch eine Verbesserung der seit Jahren von mir angewandten und empfohlenen Phenolphthaleinreaktion. Die letztere ist zweifellos die empfindlichste Oxydasenprobe, die wir bisher besitzen. Aber sie hat gerade auch deshalb Fehlerquellen, die ihren Wert einigermaßen einschränken.

Diese Fehler bestehen einmal darin, daß, wie zuerst Kober[1]) gezeigt hat, das in gewöhnlicher Weise durch Reduktion des Phenolphthaleins oder auch des Phthalinsalzes, dem in der Regel noch immer mehr oder weniger starke Spuren von Phthaleinverbindungen anhaften, erhaltene Produkt namentlich nach längerem Stehen basische Phthalate enthalten kann. Die hierdurch entstehende Täuschungsmöglichkeit ist zwar nicht so groß, kann aber doch, wo es sich um Grenzfälle handelt, die Entscheidung, ob minimale Blutspuren vorhanden sind oder nicht, erschweren. Viel wichtiger ist aber der Umstand, daß wie die meisten katalytischen Reagenzien auch diese, und diese in besonders empfindlicher Weise, auch auf organische und anorganische Oxydasen reagiert. Dieselbe Fehlerquelle gilt übrigens auch für die Benzidinreaktion, vorausgesetzt, daß man sie nicht künstlich abstumpft. Daher ist die Phenolphthalein- und Benzidinprobe nur unter zwei Bedingungen eindeutig, nämlich bei stark positivem und bei völlig negativem Ausfall. Bei geringer Rotfärbung (Phenolphthalein) oder Grün-

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. **1911**, 32.

färbung (Benzidin) würde ich nach meinen jetzigen Erfahrungen ein sicheres Urteil über Vorhandensein oder Fehlen von Blutfarbstoff nicht mehr vertreten können.

Der Gedanke, das Phenolphthalein durch ein anderes, weniger empfindliches Phthalat zu ersetzen, lag also nahe. Als sehr geeignet hat sich mir zu diesem Zwecke das bereits genannte Thymolphthalein, und zwar sowohl für den Nachweis von Kot- als auch Mageninhaltsblut, bewährt.

Das Thymolphthalein ist ein farbloses Salz von der Formel:

$$\left.\begin{array}{l}HO.C_6H_2(CH_3)(C_6H_7)\\ HO.C_6H_2(CH_3)(C_3H_7)\end{array}\right\rangle C\left\langle\begin{array}{c}O-\!\!-\\ C_6H_4\end{array}\right\rangle CO.$$

Bei Zusatz von Alkali geht es in das blaue Alkalisalz über von der Formel:

$$\left.\begin{array}{l}O = C_6H_2(CH_3)(C_3H_7)\\ HO.C_6H_2(CH_3)(C_3H_7)\end{array}\right\rangle C-C_6H_4-COOH.$$

Bei der Reduktion mit Zinkpulver geht es in das wieder farblose Thymolphthalein über von der Formel:

$$\left.\begin{array}{l}HO.C_6H_2(CH_3)(C_3H_7)\\ HO.C_6H_2(CH_3)(C_3H_2)\end{array}\right\rangle CH-C_6H_4-COOH.$$

Ebenso wie nun das Phenolphthalein in alkalischer Lösung bei Anwendung einer organischen oder anorganischen Oxydase bzw. von Blutfarbstoff wieder zu Phenolphthalein oxydiert wird, geschieht dies auch mit dem Thymolphthalein, das hierbei aus der Leukoverbindung in eine blaugefärbte Verbindung übergeht. Es läge natürlich nahe und würde die Sache erheblich erleichtern, vom fertigen Thymolphthalein auszugehen, dieses in Alkalien zu lösen und damit unmittelbar die betreffende Reaktion anzustellen. Indessen war es mir nicht möglich, während des Krieges Thymolphthalein käuflich zu erhalten. Inwieweit es gelingen wird, ein völlig reines, d. h. von Phthaleinverbindungen freies Thymolphthalein zu gewinnen, muß abgewartet werden. Vor der Hand müssen wir vom Thymolphthalein ausgehen.

Die Reduktion geschieht in gleicher Weise wie bei der des Phenolphthaleins. Zu diesem Zwecke werden 1 g Thymolphthalein und 25 g Kal. hydric. fus. in 100 g Wasser gelöst und 10 g Zinkpulver hinzugesetzt. Die anfänglich tiefblaue Lösung wird unter ständigem Schütteln

im Erlenmeyerkolben so lange erhitzt, bis vollkommene Entfärbung eingetreten ist. Dann wird heiß filtriert und bis zum ursprünglichen Volumen aufgefüllt. Die Prozedur ist übrigens in höchstens 2 bis 3 Stunden, meist sogar viel schneller beendigt. Der Lösung wird ein reichliches Quantum Zinkspäne oder granuliertes Zink in Höhe eines halben Kubikzentimeters hinzugesetzt. In dieser Weise hergestellt, hält sich das Reagens, wie ich mich überzeugt habe, mehrere Wochen lang unverändert. Zweckmäßig ist es auch hier, den Flaschenhals und dessen Umgebung sorgfältig von etwa anhaftendem Thymolphthalein zu befreien.

Die Ausführung der Reaktion für die Faeces gestaltet sich in folgender Weise:

Ein etwa kirschgroßes Faecesfragment aus der Mitte oder bei dünnflüssiger Substanz etwa 1 Teelöffel wird unter Zusatz von 10 Tropfen Eisessig und allmählichem Zufügen von 5 bis 10 g Alkohol innig verrieben. Von dem Thymolphthaleinreagens nimmt man 20 Tropfen und setzt 15 Tropfen 3 %ige H_2O_2-Lösung und noch einige Tropfen absoluten Alkohol hinzu. Man filtriert nun von dem genannten Extrakt zu dem Reagens. Bei starker Blutanwesenheit tritt beim Umschütteln sofort eine graublaue, allmählich tiefblaue Färbung ein, die sich tagelang hält. Bei schwachem Blutgehalt erfolgt der Farbenumschlag erst nach kurzem Stehen und ist nicht tiefblau, sondern violett. Bei Fehlen von Blutfarbstoff bleibt sowohl die untere Bodenschicht als auch das Reaktionsgemisch ungefärbt oder nimmt nach sehr langem Stehen höchstens eine rauchgraue Färbung an, die eine Verwechslung mit dem Blau oder Violett bei positivem Reaktionsausfall ausschließt. Die bei Anstellung der Reaktion erfolgende Fällung rührt von Zinkhydroxyd her[1]).

Für die Untersuchung von Blut im Mageninhalt empfiehlt sich das folgende Vorgehen: Zirka 5 ccm gut durchgemischten Mageninhaltes werden bei saurer Reaktion mit ca. 10 Tropfen 10 %iger Sodalösung neutralisiert, dann 10 Tropfen Eisessig zugefügt, geschüttelt, bis die Kohlensäure vollkommen entfernt ist, dann absoluter Alkohol im Überschuß zugefügt, nochmals kräftig geschüttelt und zu dem wie oben angegeben hergestellten Thymolphthaleinreagens filtriert. Bei großem Blutgehalt kann man

[1]) Während und vor den Stuhluntersuchungen auf Blut muß man übrigens den Gebrauch phthaleinhaltiger Substanzen (Purgen, Laxin usw.) vermeiden, da durch die hierbei auftretende Rotfärbung die Blutreaktion verdeckt werden kann.

sehr bald eine schöne blaue Zonenreaktion beobachten, bei geringerem tritt diese erst nach kurzem Umschütteln ein. Bei Fehlen von Blutfarbstoff tritt keine Farbenänderung auf.

Weiter habe ich das Thymolphthaleinreagens auch für den Blutnachweis im Urin verwendet, und zwar in der gleichen Weise wie beim Mageninhalt. Obgleich ich auch hierbei selbst bei geringem Blutgehalt des Harns eine deutliche Blaufärbung konstatieren konnte, so scheint sie mir doch dem oben genannten Nachweis mittels Chloralhydratalkohol oder Chloralhydratäther an Schärfe wesentlich nachzustehen.

Bei negativem Reaktionsausfall der Probe ist es unbedingt erforderlich, sich der Sicherheit wegen von der Alkalinität des Reaktionsgemisches zu überzeugen. Bei Zusatz von 10 Tropfen Eisessig zu Faeces oder Mageninhalt habe ich allerdings bei wiederholten Nachprüfungen feststellen können, daß dasselbe ausnahmslos der Fall ist. Immerhin ist die Anwendung dieser Kautele zu beachten.

Was die Empfindlichkeit der Guajaconreaktion unter Zugrundelegung der oben beschriebenen Chloralalkohol- bzw. Chloralätherextraktion sowie ferner der Thymolphthaleinreaktion betrifft, so stehen beide, an bluthaltigen Faeces geprüft, wie man sich leicht überzeugen kann, der Phenolphthalein- und Benzidinprobe entschieden nach. Das heißt, wenn man beide am Eisessig-Alkoholextrakt der Faeces anstellt. Stellt man dagegen die Benzidinprobe nach einer der zahlreichen Abstumpfungsmethoden, z. B. nach Schlesinger-Holst[1]) oder nach Wagner[2]) an, so erhält man in der Regel mit allen drei gut übereinstimmende Resultate, oft sogar noch ein positives Ergebnis bei negativer Benzidinprobe.

Die eben erwähnte Wagnersche Modifikation beruht, wie vielleicht nicht allgemein bekannt, darauf, daß man mit einem Streichholz ein erbsengroßes Faecesfragment auf einen Objektträger fein verstreicht und etwas von dem Benzidin-Eisessig-H_2O_2-Gemisch in bekannter Weise darüberfließen läßt. Bei Blutanwesenheit tritt sofort oder nach wenigen Minuten Grünfärbung auf. Ich habe die im Prinzip gleiche Modifikation in

[1]) Deutsche med. Wochenschr. **1906**, 36.

[2]) Arch. f. Verdauungskrankheiten **20**, 552, 1915.

der Weise angewendet, daß ich mit einem Glasstab ein kleines Faecesfragment auf den Rand eines Abdampfschälchens fein verstrich und dann das Benzidinreagens langsam zufließen ließ. Sicherlich ist diese Modifikation für erste grobe Orientierungszwecke sehr geeignet. Ob sie auch bei geringen Blutspuren unter allen Umständen verläßlich ist, möchte ich aber bezweifeln.

Nach meinen Untersuchungen an künstlichen Blut-Faeces-Gemischen erhält man deutliche Reaktionen mit beiden Methoden bei Anwesenheit von $3^0/_{00}$ Blut bei Anwendung von 1 g Faeces; darunter entweder negative oder unsichere Ergebnisse. Maßgebender als die Prüfung an solchen künstlichen Faeces-Blutgemischen sind Untersuchungen an Gesunden oder auch Kranken mit sicherem Fehlen von Blutfarbstoff in den Faeces, denen man genau abgemessene Blutmengen mit der Nahrung zugeführt hat. Untersuchungen nach dieser Richtung behalte ich mir vor.

Schließlich ist für die Thymolphthaleinprobe noch der Umstand zu diskutieren, erstens inwieweit die Probe etwa durch die hierbei in Anwendung kommenden Reagenzien beeinflußt wird, und zweitens wie lange das fertiggestellte Reagens, ohne Zersetzungen zu erleiden, haltbar ist.

Den ersten Punkt betreffend konnte ich nach einigen gemeinsam mit C. Neuberg angestellten Proben, dem ich auch an dieser Stelle für sein freundliches Interesse und Unterstützung bei diesen Untersuchungen meinen verbindlichsten Dank ausspreche, folgendes feststellen: Im Gegensatz zum Phenolphthalinreagens macht sich beim Thymolphthalinreagens die Gegenwart von Phthalaten nicht störend geltend, sofern man sich streng an die vorhin erwähnte Versuchsanordnung hält. Was weiter die Haltbarkeit des Reagens betrifft, so ist sie, wenn man nur für einen großen Überschuß von Zinkstaub oder noch besser granuliertem Zink sorgt, billigen Ansprüchen durchaus gewachsen. Selbst nach 4 bis 6 Wochen konnte ich bei Fehlen von Blutfarbstoff eine völlig negative Reaktion sowohl bei Prüfung von Mageninhalt als auch von Faeces feststellen. Immerhin empfiehlt es sich, von Zeit zu Zeit eine Zuverlässigkeitsprüfung der Probe durch Anstellung eines blinden Versuches mit den beim Blutnachweis in Frage kommenden Reagenzien vorzunehmen. Es darf hierbei keine Spur von Blaufärbung eintreten.

Der Einwand etwaiger Täuschungsmöglichkeiten durch mitgerissene Oxydasen ist sowohl bei der modifizierten Guajacon- als auch bei der Thymolphthalinprobe allerdings nicht ganz von der Hand zu weisen. Soweit es sich um organische Oxydasen handelt, wäre eine Beseitigung durch Kochen, wie dies vielfach, zuerst von Schlesinger-Holst[1]) vorgeschlagen wurde, natürlich leicht zu bewerkstelligen. Indessen habe ich mich bei zahlreichen Versuchen sowohl mit der Phenolphthalin- als auch mit der Benzidinprobe überzeugen können, daß abgekochte Faecesaufschwemmungen an Reaktionsfähigkeit keineswegs verlieren.

Den Hauptanteil an störenden Beimischungen müssen demnach wohl anorganische Katalysatoren bilden (Eisen- oder Manganverbindungen, Nitrite). Sehr erheblich sind aber auch diese keineswegs. Sie kommen als störende Momente anscheinend nur bei besonders hochempfindlichen Oxydasereaktionen zur Geltung. Insofern glaube ich, daß die von mir angegebene Modifikation der Guajacreaktion und die Thymolphthalinprobe die genannte Fehlerquelle in glücklicher Weise ausschaltet.

Trotzdem wäre es als ein großer Fortschritt zu begrüßen, wenn wir ein möglichst einfaches Verfahren besäßen, im Mageninhalt und in den Faeces alle außer Blut katalytisch wirkende Substanzen derart zu eliminieren, daß wir die katalytischen Proben ausschließlich als spezifische Blutproben verwerten könnten.

---

[1]) l. c.

Die Kohlensäureabgabe des absterbenden Muskels als Ursache der Lösung der Totenstarre[1]).

Von

Leonhard Wacker.

(Eingegangen am 26. November 1916.)

Mit 1 Figur im Text.

Die Kohlensäureabgabe des absterbenden Muskels beansprucht deshalb besonderes Interesse, weil sie sehr wahrscheinlich die Ursache der Lösung der Totenstarre ist. Sie ist gewissermaßen als eine Fortsetzung der Atmungstätigkeit nach dem Tode auf anormalem Wege zu betrachten.

Die Menge des abgestoßenen Gases ist sehr erheblich, so daß die im Muskel präformierte Kohlensäure bei weitem nicht zur Erklärung der Herkunft ausreicht. Der nach Abzug der präexistierenden Kohlensäure verbleibende Rest kann auch nicht ganz auf Konto der Bakterientätigkeit gesetzt werden, da einige am isolierten Muskel vorgenommenen Versuche schon zu einer Zeit große Kohlensäuremengen aufwiesen, zu der eine Überhandnahme der Einwirkung der Bakterien nicht wahrzunehmen war.

Der Zweck dieser Untersuchung soll daher sein, die Möglichkeit der Herkunft und die Art der Abgabe der Kohlensäure des Muskels bzw. der Leiche zu verfolgen.

---

[1]) Vergl. hierzu die vorausgegangenen Publikationen: Zur Kenntnis der Totenstarre und der physiol. Vorgänge im Muskel. Münch. med. Wochenschr. **1915**, Nr. 26, 874/75; Nr. 27, 913/16. — Anoxybiotische Vorgänge im Muskel. Arch. f. d. ges. Physiol. **163**, 491, 1916. — Physikalische und chemische Vorgänge im absterbenden Muskel als Ursache der Totenstarre. Diese Zeitschr., **75**, 101, 1916. — Die Kohlensäure des Muskels und ihre Beziehungen zur Entstehung und Lösung der Totenstarre. Arch. f. d. ges. Physiol., **165**, 451, 1916. — Chemodynamische Theorie der Muskelcontraction. Berl. klin. Wochenschr. (im Druck); Arch. f. d. ges. Physiol. (im Druck).

Zum Verständnis der weiteren Ausführungen ist es nötig, das Zustandekommen der Totenstarre, d. h. der Starrecontraction nochmals im Zusammenhang mit den physiologischen Prozessen des Muskelstoffwechsels zu wiederholen:

Die Totenstarre ist als eine durch Kohlensäuredruck im Innern der Muskelfaser verursachte Dauercontraction aufzufassen. Die Kohlensäure entsteht aus Alkalibicarbonat unter Einwirkung der Milchsäure, dabei bildet sich Alkalilactat. Die Milchsäure selbst ist das Abbauprodukt des Glykogens bei der Muskelarbeit oder nach dem Tode. Die Anwesenheit von Alkalibicarbonat ist auf die Oxydation des Alkalilactats zurückzuführen, sie ist also abhängig von der Gegenwart von Sauerstoff. Von der physiologischen Muskelcontraction unterscheidet sich die Totenstarre dadurch, daß im ersteren Falle zu jeder Zeit, beim Nachlassen des Reizes, eine Restitution des Muskels erfolgen kann. Diese Rückkehr in die Ruhelage wird unter physiologischen Verhältnissen durch Beseitigung des Kohlensäuredruckes mit Hilfe des im Muskel vorhandenen Dikaliumphosphates und Kaliumalbuminates ermöglicht. Durch ein harmonisches Zusammengreifen dieser umkehrbaren, chemischen Prozesse wird erreicht, daß die mit der rasch produzierten Kohlensäure verbundene Drucksteigerung momentan beseitigt und die Kohlensäure hinterher langsam abgegeben werden kann. Beim totenstarren Muskel sind die beiden genannten chemischen Substanzen durch die reichlich gebildete Milchsäure in Monoalkaliphosphate und die Eiweißkomponente der Albuminate zerlegt worden, sie können die Kohlensäure nicht mehr binden, so daß der Kontraktionszustand infolge des bestehenden Kohlensäuredruckes anhalten muß. Unter physiologischen Verhältnissen kommt es zu keiner so beträchtlichen Milchsäurebildung im Muskel, daß die erwähnten Salze vollkommen zerlegt werden, denn das zirkulierende Blut führt immer Sauerstoff zu und oxydiert das gebildete Alkalilactat zu Alkalibicarbonat. Hieraus geht hervor, daß die Totenstarre überhaupt nicht zustande kommt, wenn ein Sauerwerden des Mukels vermieden wird. Dies kann durch künst-

liche Sauerstoffzufuhr geschehen. Diese Tatsache wurde durch H. Winterstein[1]) schon früher erkannt und die Totenstarre als eine Folge des Sauerstoffmangels bezeichnet. Dementsprechend konnte er beweisen, daß bei genügender Sauerstoffversorgung überhaupt keine Starre eintritt, bzw. eine in der Entwicklung begriffene gehemmt wird.

Nach bis jetzt nicht veröffentlichten Versuchen gelingt es, durch wiederholte Infusion hypertonischer Salzlösungen mit Beimischung von Dialkaliphosphaten und Natriumbicarbonat durch das Gefäßsystem von Kaninchen- und Meerschweinchen-Leichen eine Beschleunigung der Lösung der Starre herbeizuführen. Sauerstoffversorgung und Vermehrung der Alkalescenz haben also die gleiche Wirkung. Diese Art der Lösung beruht nicht auf dem Entweichen der Kohlensäure, sondern sie steht im Einklang mit dem normalen Chemismus des Muskelstoffwechsels.

Die natürliche Lösung der Totenstarre, nach Ausschluß der Möglichkeit einer Regeneration der Alkalescenz durch Oxydation, kann nur erfolgen, wenn der Kohlensäuredruck beseitigt ist. Da sich unter physiologischen Verhältnissen die Kohlensäure durch Diffusion durch die Grenzmembranen der Zellen entfernt, muß sich derselbe Prozeß nach dem Ableben, wenn auch unter Überwindung größerer mechanischer Hindernisse, fortsetzen können. Für die Erklärung des Nachlassens des Druckes gibt es jedoch noch andere Möglichkeiten:

Mit dem Fortfallen der Regulationsmechanismen könnte sich der Druck in den Muskelfasern so steigern, daß sie bersten[2]). Ferner können proteolytisch-autolytische Fermente durch Hydrolyse die Membran von innen oder außen zerstören, wodurch das Entweichen der Kohlensäure befördert würde. Ähnliche Vorgänge finden zweifellos statt, ist es doch eine bekannte Tatsache, daß das Muskelfleisch frisch geschlachteter Tiere zähe ist. Erst nach mehrtägiger Lagerung wird es den Kauwerkzeugen und den Verdauungsfermenten zugänglicher.

---

[1]) Hans Winterstein, Zeitschr. f. allgem. Physiol. 4, 333, 1904; 6, 315, 1907. — W. Biedermann in Asher-Spiros Ergebnissen der Physiologie. 8, 195, 1909.

[2]) Über einen derartigen Vorgang unter dem Einfluß verdünnter Säuren berichtet Rollet. Siehe bei W. Biedermann a. a. O. S. 193.

Da im mikroskopischen Bilde der Gewebe keine Anhaltspunkte für gewaltsame mechanische Zerstörungen[1]) nach dem Eintritt der Totenstarre existieren, scheint das Entweichen des Gasdruckes durch Diffusion, eventuell unterstützt durch die Autolyse, am wahrscheinlichsten.

Diese Art der Entladung des Druckes steht am besten in Einklang mit dem langsamen Abflauen der Starreerscheinungen. Die Verzögerung der Lösung wird hervorgerufen durch den Widerstand, den das umliegende Gewebe der Gasbewegung entgegensetzt. Die mit einem vollkommenen Nachlassen des Druckes zeitlich zusammenfallende Lösung wird abhängig sein von dem Stillstand der Kohlensäurebildung. Nach den Erfahrungen beim Studium der Gewebsatmung wird sie mindestens so lange andauern, bis der in den Geweben verfügbare Sauerstoff aufgezehrt ist.

Diese Abhängigkeit der Kohlensäurebildung von der Sauerstoffversorgung kann man sehr schön beobachten, wenn man einen größeren Muskel über Nacht in einen luftdicht verschließbaren Cylinder hängt. Gleich einem lebenden Tiere verzehrt derselbe den Sauerstoff der Luft, und Kohlensäure wird dagegen ausgetauscht. Bei geeigneter Versuchsanordnung erlischt ein in die Atmosphäre eingeführter brennender Span sofort. Leitet man Luft über einen zerkleinerten, in einem Kolben befindlichen Muskel, so produziert er etwa die dreifache Kohlensäuremenge wie im Wasserstoffstrom. Selbst das im Wasserstoff abgegebene Kohlendioxyd übertrifft mit der Zeit die Menge der präexistierenden Kohlensäure.

Demnach könnte man die folgenden Kohlensäurequellen unterscheiden: Die präformierte Kohlensäure, ferner die Kohlensäure, die unter dem Einfluß des im Muskel verfügbaren Sauerstoffes entsteht, und die durch von außen zuströmenden Luftsauerstoff vermehrt werden kann, und eine Kohlensäureproduktion, die auch bei Luftabschluß, mit oder ohne die Anwesenheit von Bakterien, vor sich geht.

Die präformierte Kohlensäure findet sich im Muskel frei

[1]) Vielleicht läßt sich die am Herzen beobachtete „Fragmentatio" (myocardii) im gedachten Sinne deuten.

und in locker gebundenem Zustande vor. Letztere ist in Form von Alkalibicarbonat vorhanden und durch Oxydation aus Lactat entstanden. Ferner bildet sich das Alkalibicarbonat im alkalischen Muskel unter dem Einfluß der Kohlensäure aus dem Dikaliumphosphat nach der Gleichung:

$$K_2HPO_4 + H_2CO_3 \rightleftarrows KH_2PO_4 + KHCO_3.$$

Aus dem Bicarbonat-Gehalt ist zu schließen, daß der saure, arbeitende oder totenstarre Muskel mehr freie Kohlensäure enthalten wird als der alkalische und ausgeruhte Muskel. In letzterem wird das Bicarbonat vorherrschen. Da auch nach dem Tode des Individuums im Muskel vorübergehend durch Oxydation von Lactat noch Bicarbonat erzeugt und andererseits durch Glykogenabbau Milchsäure gebildet wird, findet eine, dem Verlaufe dieser Prozesse entsprechende, an Menge stetig abnehmende Kohlensäurebildung statt. Die sogenannte präformierte Kohlensäure ist also kein stabiler Bestandteil, sondern sie ist einem beständigen Ab- und Zugang unterworfen. Abgesehen von der Bakterientätigkeit geben vielleicht die zahlreichen Untersuchungen über die innere oder Gewebsatmung[1]) noch Anhaltspunkte für eine weitere Kohlensäurequelle. Nach den Untersuchungen von Battelli und Stern kann man bei der Atmung zwei verschiedene Vorgänge unterscheiden, die unabhängig voneinander Sauerstoff aufnehmen und CO_2 abgeben, nämlich die Hauptatmung[2]) und die ak-

[1]) A. Bach, Oxydationsprozesse in der lebenden Substanz. Oppenheimers Handbuch der Biochemie, Ergänzungsband **1913**, 133. — A. Loewy, Gase des Körpers, dortselbst **4**, I. und ferner: Der Gaswechsel des Körpers, der Gewebe und isolierten Zellen; dortselbst Ergänzungsband S. 183. — Battelli und Stern, Methode zur Bestimmung der Atmung; Abderhaldens Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden, **3**, 144.

[2]) Durch Extraktion der Gewebe, besonders des roten Muskels, läßt sich nach Battelli und Stern (a. a. O.) eine Substanz, das „Pnein" gewinnen, ohne die das zurückbleibende Gewebe nicht zu atmen, d. h. weder Sauerstoff aufzunehmen noch CO_2 abzugeben, vermag. Diese Substanz verträgt die Siedehitze, ist dialysierbar und soll weder durch Säuren noch durch Alkalien, einschließlich Baryt, gefällt werden. Da es sich um einen wäßrigen, dialysierten Auszug handelt, können nur anorganische und organische Alkalisalze, wie Phosphate, Chloride und Lactate und eventuell noch Kreatin, das jedoch sehr wenig dialysiert, in Betracht kommen, d. h. vorzugsweise dieselben Salze, über die der

zessorische Atmung. Danach ist die Hauptatmung ein labiler, an die Vitalität der Zellen gebundener Prozeß, der einige Stunden nach dem Tode aufhört. Die akzessorische Atmung dagegen kann sich auch in einem von Zellen völlig befreiten Auszug vollziehen und 24 Stunden und länger anhalten. Für die physiologische Muskelcontraction und den analogen Vorgang der Totenstarre kann nur ein Prozeß in Frage kommen, der sich innerhalb der Zellen abspielt, denn nur dadurch ist eine Kraftentfaltung denkbar. Die Hauptatmung wird demnach identisch sein müssen mit dem oben geschilderten Kohlenhydratabbau über die Milchsäure und das Alkalibicarbonat.

Unerklärt bleibt der Chemismus der akzessorischen Atmung. Bei der Versuchsanordnung der Autoren, durch Suspension des Gewebes in alkalisch gehaltener Flüssigkeit, sind außergewöhnliche Bedingungen geschaffen, die sich von den Verhältnissen am unveränderten Muskel unterscheiden. Merkwürdig ist, daß der Herzmuskel, die Skelettmuskeln des Hundes und Kaninchens[1]) keine akzessorische Atmung besitzen.

Es fehlen somit immer noch sichere Anhaltspunkte für die Herkunft weiterer Kohlensäuremengen nach Eintritt der Starre aus dem absterbenden Muskel bei Gegenwart von Luftsauerstoff, wenn man sie nicht, wie dies andere Autoren[2]) tun, vollkommen auf Bakterienwirkung zurückführen will.

Der Lebensprozeß mancher Fäulnisbakterien[3]) ist

Kohlenhydratabbau führt, bzw. die dabei eine große Rolle spielen. Die Bedeutung des Vorhandenseins solcher Salze haben Battelli und Stern dadurch gewürdigt, daß sie der Flüssigkeit, in der die Gewebe versuchsweise atmen müssen, Natriumbicarbonat und Dinatriumphosphat in 1 $^0/_0$iger Lösung zusetzen. Das Dinatriumphosphat unterstützt, ebenso wie das Pnein, die Atmung sehr (siehe a. a. O. S. 467 u. 473). Es hat daher den Anschein, als ob gerade die Phosphate die wesentlichen Bestandteile des Pnein sind. Die Nichtfällbarkeit des Pnein durch Baryt scheint kein Beweis gegen diese Anschauung zu sein, weil die Autoren der Suspensionsflüssigkeit unter allen Umständen Dinatriumphosphat zusetzen.

[1]) Battelli und Stern, a. a. O. S. 465.

[2]) Fletcher, Journ. of Physiol. **23**, 1898.

[3]) Vgl. F. Samuely, Über Eiweißfäulnis. Oppenheimers Handb. d. Biochem. I, S. 483, 1909.

mit hydrolytischem Abbau des Eiweißes und der Produktion von Kohlensäure und organischen Basen, den sogenannten Fäulnisbasen, verknüpft. Die folgende Formelgleichung gibt das Bild eines solchen Vorgangs. Als Beispiel diene die Spaltung des Glykokolls:

$$H_2NCH_2COOH = H_2NCH_3 + CO_2.$$

Wenn man den Muskelextrakt während der Eiweißfäulnis titriert, findet man eine erhebliche Vermehrung der Alkalescenz[1]). Während sich im absterbenden, sterilen Muskel die Summe aus Alkalescenz + Acidität einer konstanten Zahl nähert, ist bei der Fäulnis dieser Wert erhöht.

Übereinstimmend mit der Steigerung der Alkalescenz geht die Zunahme der löslichen Eiweißkörper, wie die folgende Tabelle zeigt.

Tabelle I.

Chemische Veränderungen im absterbenden Kaninchenmuskel.

Versuchsanordnung	Alkalescenz in ccm $^n/_{10}$-SO_4H_2 pro 100 Muskel	Alkalescenz in g Milchsäure pro 100 Muskel	Acidität in ccm $^n/_{10}$-Alkali pro 100 Muskel	Acidität in g Milchsäure pro 100 Muskel	Albuminat-Eiweiß im Extrakt pro 100 Muskel	Summe von Alkalescenz + Acidität	Bemerkungen
Sogleich nach[2]) dem Tode entnommener Muskel . . .	49,3	0,44	45,2	0,41	0,69	94,5	
5 bis 6 1/2 Std.[2]) nach dem Tode . . .	29,0	0,26	60,0	0,54	0,15	89,0	Eintritt der Starre
22 bis 24 Std.[2]) nach dem Tode . . .	25,3	0,22	64,4	0,58	0,06	89,7	
48 Std.[2]) nach dem Tode	28,0	0,25	60,9	0,55	0,04	88,9	Lösung der Starre
78 Std. nach dem Tode	21,3	0,19	66,7	0,59	0,06	88,0	
8 mal 24 Std. nach dem Tode, 1. Probe	37,3	0,33	69,3	0,62	0,41	106,6	Eiweißfäulnis
8 mal 24 Std. nach dem Tode, 2. Probe	50,7	0,45	61,3	0,55	0,71	112,0	

Nach dem Vorgesagten muß man unterscheiden zwischen einer aus Kohlenhydrat und einer aus Eiweiß stammenden Kohlensäure. Während der besprochene

[1]) Vgl. Arch. f. d. ges. Physiol. **165**, 477, 1916.

[2]) Mittel aus den Versuchen 1, 2, 3, 4 und 5 der Serie 3 Tabelle I. Diese Zeitschr. **75**, 104, 1916.

Kohlenhydratabbau ohne Bakterienhilfe vor sich geht, sind zur Kohlensäureabspaltung aus Eiweiß Spaltpilze erforderlich. Es bleiben demnach noch zwei Bildungsmöglichkeiten übrig: nämlich eine Kohlensäureproduktion aus Kohlenhydrat mit Hilfe von Bakterien und eine Kohlensäurebildung aus Eiweiß ohne bakterielle Einwirkung, lediglich durch Autolyse.

Der sterile Abbau des Eiweißes durch Autolyse unter Bildung von CO_2 ist deshalb unwahrscheinlich, weil er mit einer Produktion von organischen Basen verbunden sein müßte. Für einen solchen Vorgang gibt die obenstehende Tabelle keine Anhaltspunkte; denn die Vermehrung der Alkalescenz setzt erst nach 8 mal 24 Stunden, mit dem Eintritt der Fäulnis, ein (siehe Tabelle I).

Experimenteller Teil.

Die Kohlensäureabgabe der Kaninchen- und Meerschweinchenleichen wurde bereits in einer früheren Mitteilung[1]) behandelt. In der vorliegenden Untersuchung sollen die früheren Ergebnisse noch speziell für den isolierten Muskel bestätigt werden. Um allen Verhältnissen Rechnung zu tragen, wurde der Gehalt des Muskels an präformierter Kohlensäure ermittelt und die Kohlensäureproduktion bei Zutritt von Luftsauerstoff und bei Ausschluß desselben festgestellt.

I. Die präformierte Kohlensäure des Muskels.

Der Kohlensäuregehalt des Muskels wird auf 15 bis 20 Volumprozent angegeben. Je nach den Versuchsbedingungen sind die Schwankungen jedoch größer. Wie schon ausgeführt, ist die präexistierende Kohlensäure kein stabiler Bestandteil des Muskels. Sie ist in erster Linie abhängig von der Beschaffenheit desselben. Ein ödematöser, degenerierter Muskel kann keine oder nur wenig Kohlensäure speichern (Versuch 1 der Tabelle II). In solchen Fällen ist entweder gar keine Totenstarre vorhanden, oder sie ist nur von kurzer Dauer. Der Befund ist weiterhin abhängig von der Versuchsanordnung. Hat z. B. ein vom

[1]) Die Kohlensäure des Muskels und ihre Beziehungen zur Entstehung und Lösung der Totenstarre a. a. O.

Tabelle

Kohlensäureabgabe des Muskels beim Auskochen,

Versuch Nummer	Art des Muskels	Todesursache	Durch Auskochen des Muskels				Abgabe der Kohlensäure		
			Angewandte Muskelmenge g	Menge d. beim Auskochen erhaltenen Kohlensäure[1] g	Menge der pro 100 g Muskel erhaltenen Kohlensäure g	Volumprozent Kohlensäure, spez. Gewicht des Muskels = 1,04	Angewandte Muskelmenge g	Kohlensäure-abgabe bei gewöhnlicher Temperatur[2] g	Menge pro 100 g Muskel g
1	M. Quadriceps des Menschen	Mitral-insuffizienz, Sekt. Nr. 596	479	0,0610	0,0127	6,7	—	—	—
2	M. Quadriceps des Menschen	Miliar-tuberkulose, Sekt. Nr. 610	304	0,0960	0,0315	16,7	—	—	—
3	M. Quadriceps des Menschen	Suicid, Sekt. Nr. 701, Herzstich	400	0,1323	0,0330	17,6	—	—	—
4	Beinmuskel des Pferdes	Schlachtung durch Entblutung	400	0,0724	0,0181	9,6	300	0,1350 0,6855	0,0450 0,2285
5	Beinmuskel des Pferdes	Schlachtung durch Entblutung	411	0,0849	0,0206	10,9	310	0,0790 0,5911	0,0254 0,1907
6	Muskeln des Hinterbeines vom Hund	Aus der Carotis in der Chloro-formnarkose entblutet	502	0,2144	0,0427	22,6	—	—	—
6a	do.	do.	425	0,2203	0,0493	26,0	—	—	—
7	M. Quadriceps des Menschen	Apoplexie, Sekt. Nr. 653	—	—	—	—	331	0,0536 0,0776 0,1787 0,2282 0,3650	0,0162 0,0234 0,0539 0,0689 0,1087
8	Pferdemuskel	Schlachtung durch Entblutung	—	—	—	—	300	0,0246 0,0531 0,0666 0,4492 0,7962	0,0082 0,0177 0,0222 0,1497 0,2654
9	Pferdemuskel	Schlachtung durch Entblutung	—	—	—	—	300	0,0320 0,0782 0,1190 0,4836 0,9565	0,0107 0,0260 0,0397 0,1612 0,3122

[1]) Nach Abzug von 0,0138 g, die dem blinden Versuch entsprechen. — [2]) Nach Abzug
Hackmaschine zerkleinert. — [4]) Vor der Wägung wurde durch den Kaliapparat ca. 1/4 Std.
Kaliapparat vor der Wägung nicht durch Durchleiten von Luft entfernt.

II.
beim Überleiten von Luft und im Wasserstoffstrom.

im Luftstrom		Abgabe der Kohlensäure im Wasserstoffstrom					
Volumprozent der abgegebenen Kohlensäure, spez. Gew. = 1,04	Zeit, innerhalb der die CO_2 abgegeben wurde	Angewandte Muskelmenge g	Menge d. bei gewöhnlich. Temperatur abgegebenen CO_2[2])[4]) g	Menge der pro 100 g Muskel abgegebenen CO_2 g	Volumprozent der Kohlensäure, spez. Gew. des Muskels = 1,04	Zeit, innerhalb der die CO_2 abgegeben wurde	Bemerkungen[3])
—	—	—	—	—	—	—	Anm. zu 1. Stark ödematöser, degenerierter Muskel. Totenstarre.
—	—	—	—	—	—	—	Anm. zu 2. 20 Std. nach dem Tode aus der Leiche entnommen. Kräftige Totenstarre.
—	—	—	—	—	—	—	Anm. zu 3. Kräftige Totenstarre. Muskel 26 Std. nach dem Tode aus der Leiche entnommen. Muskel blutarm. — Herzstich.
23,8	8 Std.	—	—	—	—	—	Anm. zu 4. Muskel 24 Std. p. m. vom Schlächter bezogen. Temp. des Versuchsraums 18°.
120,9	27 „						
13,4	8 Std.	—	—	—	—	—	Anm. zu 5. Muskel 24 Std. p. m. vom Schlächter bezogen. Temp. des Versuchsraums 17°.
100,9	23 „						
—	—	—	—	—	—	—	Anm. zu 6. Muskel 30 Min. nach dem Tode untersucht.
—	—	—	—	—	—	—	Anm. zu 6a. Entnahme nach 6 mal 24 Std. nach dem Tode. Auch dann bestand im Hinterfuß noch Totenstarre, während die Starre an den übrigen Extremitäten gelöst war.
8,5	4 Std.	304	0,0000[5])	0,0000	0,0	4 Std.	
12,1	5½—6Std.		0,0340	0,0111	5,9	5½—6Std.	
28,5	Nach dem Stehen über Nacht =21 Std.		0,0652	0,0213	11,3	Nach dem Stehen über Nacht =21 Std.	Anm. zu 7. Kräftige Totenstarre. Beginn des Versuches 16 Std. p. m. Muskel direkt vor Versuch aus der Leiche entnommen.
36,4	24 Std.		0,0752	0,0247	13,0	24 Std.	
57,5	29 „		0,1306	0,0429	22,7	29 „	
4,3	2 Std.	300	0,0129	0,0043	2,2	2 Std.	Anm. zu 8. Muskel 48 Std. nach der Schlachtung in Versuch genommen.
9,3	6 „		0,0300	0,0100	5,3	6 „	
11,7	8 „		0,0387	0,0129	6,8	8 „	
79,2	Stehen über Nacht =23 Std.		0,1572	0,0524	27,7	Stehen über Nacht =23 Std.	
140,4	26 Std.		0,2383	0,0792	42,0	26 Std.	
5,6	2¼ Std.	300	0,0308	0,0102	5,3	2¼ Std.	Anm. zu 9. Muskel 24 Std. nach der Schlachtung in Versuch genommen.
13,7	6 „		0,0504	0,0168	8,8	6 „	
21,0	8 „		0,0634	0,0211	11,0	8 „	
85,2	Stehen über Nacht =23 Std.		0,2272	0,0757	39,0	Stehen über Nacht =23 Std.	
165,2	26 Std.		0,2821	0,0940	49,7	26 Std.	

von 0,0107 g, die dem blinden Versuch entsprechen. — [3]) Muskel in allen Fällen mit der lang kohlensäurefreie Luft hindurchgeleitet. — [5]) In diesem Falle wurde der Wasserstoff im

Schlächter bezogener Pferdemuskel längere Zeit in isoliertem Zustande gelegen (Versuche 4 und 5), so war dadurch mehr Gelegenheit, Kohlensäure an die Umgebung abzugeben, als bei einem bis zum Beginne des Versuches in situ befindlichen Muskel (Versuch 6 und 6a). Sein CO_2-Gehalt ist daher geringer. In Versuch 6 und 6a war beabsichtigt, an den korrespondierenden Muskeln der beiden Hinterfüße eines kräftigen Hundes vergleichsweise den CO_2-Gehalt gleich nach dem Tode und nach Lösung der Starre festzustellen. Er scheiterte an dem Umstande, daß selbst nach 6 mal 24 Stunden, als die übrigen Körperteile schon stark in Fäulnis waren, an dem von der Haut bedeckten Fuß keine Lösung der Starre erfolgt war.

Es ließ sich überhaupt bei verschiedenen Versuchen die Wahrnehmung machen, daß die roten Muskeln des Hundes, Pferdes und Menschen die Starre viel länger beibehalten als die vorwiegend weißen des Kaninchens. Vielleicht liegt dies an dem höheren Glykogengehalt der ersteren und an dem Umstand, daß sich die chemischen Prozesse im Kaninchenmuskel rascher vollziehen.

Über die Methoden zur Bestimmung der präexistierenden Kohlensäure finden sich in der Literatur Angaben von Stintzing[1]), Harden und Maclean[2]) und Battelli und Stern[3]), die sich zum Teil widersprechen. Die Ermittlung geschieht am zweckmäßigsten durch Auskochen des Muskels, denn Hermann[4]) hat schon vor beiläufig 50 Jahren beobachtet, daß ein Muskel, dessen Kohlensäure nur durch Auspumpen entfernt wurde, später wieder CO_2 produzieren kann. Dies kann aus dem Fortgang des physiologischen Kohlenhydratabbaues sowohl, wie durch die fortschreitende Milchsäurebildung unter dem Einfluß der Fermente erklärt werden. Letztere müssen daher in der Siedehitze zerstört werden. Ein Zusatz von Phosphorsäure beim Auskochen ist überflüssig, da selbst der Extrakt des frischen Muskels neben der Alkalescenz (Dikaliumphosphat und Alkali-

1) R. Stintzing, Arch. f. d. ges. Physiol. 18, 388, 1878; 20, 189, 1879; 23, 151, 1880.

2) Harden und Maclean, Journ. of Physiol. 43, 38, 1911/12.

3) Battelli und Stern, a. a. O. S. 477.

4) Hermann, Untersuchung über den Stoffwechsel des Muskels. Berlin 1867.

albuminat) eine erhebliche Acidität (Monokaliumphosphat) besitzt (siehe Tabelle I). Die vorausgehende Zerkleinerung in der Hackmaschine oder das Zerschneiden mit dem Messer kann CO_2-Verluste bedingen.

Das beim Auskochen des Muskels oder bei der Behandlung desselben im Luft- oder Wasserstoffstrom entweichende Gas enthält außer Kohlensäure noch geringe Mengen einer anderen gasförmigen Substanz unbekannter Natur, welche die Eigenschaft besitzt, die zur Absorption benützte 50- bis 60%ige Kalilauge gelb zu färben. Aus der Lauge scheiden sich zuweilen Spuren eines schwarzen Körpers ab. In der Atmungsluft des Menschen konnte diese Substanz nicht nachgewiesen werden.

Die Bestimmung der präformierten Kohlensäure wurde in dem in Fig. 1 abgebildeten Apparat durchgeführt.

Der wesentliche Teil des Apparates besteht aus einem Fraktionskolben von ca. 1200 ccm Inhalt, der zum Auskochen des zerkleinerten Muskels durch Einleiten von Wasserdampf und darauf folgende Verdrängung der im Kolben befindlichen CO_2-haltigen Atmosphäre durch CO_2-

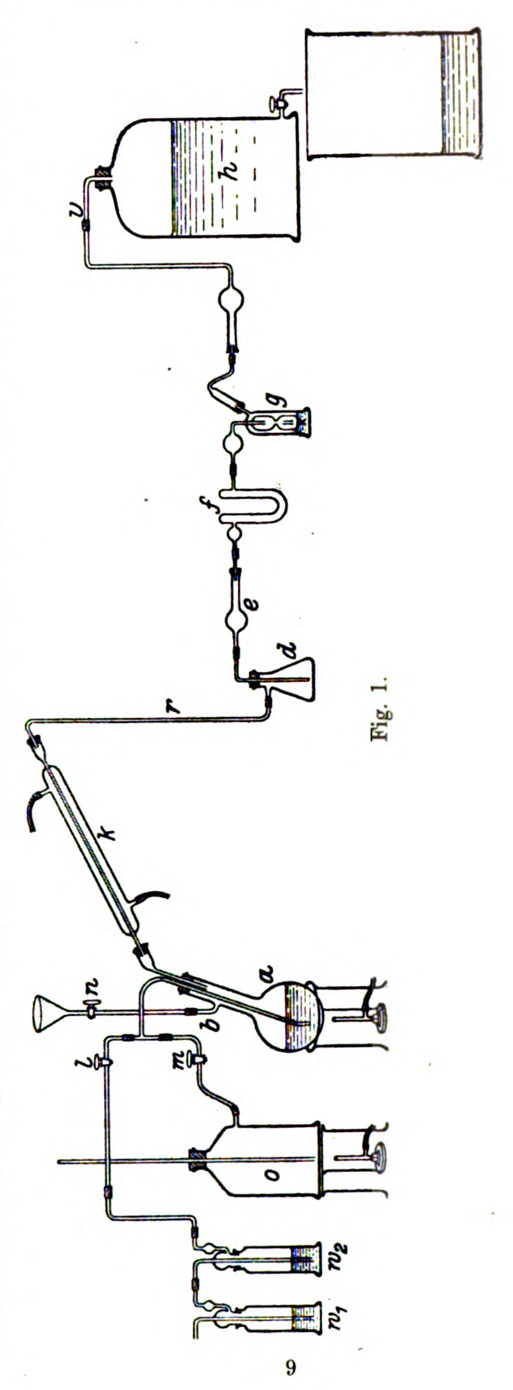


Fig. 1.

freie Luft dient. Die Absorption und Wägung der Kohlensäure geschieht in einem Kaliapparat, den die CO_2-haltige Atmosphäre des Kolbens passieren muß. Der Fraktionskolben *a* trägt einen doppelt durchbohrten Stopfen. Durch die eine Öffnung des Stopfens führt eine Glasröhre bis auf den Boden des Kolbens, in die andere ist ein schiefwinklig gebogener Vorstoß eingesetzt, der zu einem aufwärtssteigenden Liebigschen Kühler *k* führt. Die seitliche, am Halse des Fraktionskolbens befindliche Ansatzröhre *b* ist nach oben gebogen und trägt durch Vermittlung eines Gummischlauches, mit Quetschhahn verschließbar, einen Glastrichter. Durch diesen kann heißes Wasser in den Kolben eingeführt werden. Die bis auf den Boden reichende Glasröhre steht durch Gummischläuche mit einem *T*-Stück in Verbindung. Durch Quetschhahnverschlüsse wird es dadurch möglich, Wasserdampf oder von Kohlensäure befreite Luft durch ein und dieselbe Röhre in den Kolben einzuleiten. Vom oberen Ende des aufwärtssteigenden Kühlers *k* führt eine Röhre *r* die Gase zunächst durch einen vorgelegten leeren Saugkolben *d*, dann durch zwei Chlorcalciumröhren *e* und *f* nach dem gewogenen Kaliapparat *g*. Hinter dem letzteren ist nochmals eine Chlorcalciumröhre eingeschaltet, und dann folgt die Saugflasche *h*.

Vor Beginn des Versuches überzeugt man sich durch Öffnen des Wasserhahns der Saugflasche *h*, ob der Apparat vollkommen luftdicht ist, d. h. ob beim Abfließen des Wassers prompt ein Nachströmen von Luft durch die mit Lauge gefüllten Waschflaschen w_1 und w_2 erfolgt. Man saugt auf diese Weise ca. 7 l Luft (gemessen durch den Wasserablauf der Saugflasche) hindurch. Dieser sogenannte blinde Versuch dient zur Feststellung der Gewichtszunahme des Kaliapparates durch die Aufnahme der CO_2 aus der von vornherein in den Apparaten befindlichen Luft. Sie betrug im vorliegenden Falle 0,0138 g, eine Zahl, die später beim eigentlichen Versuch vom Kohlensäuregewicht in Abzug gebracht werden muß.

Beim Auskochen wird in folgender Weise verfahren: Der mit der Hackmaschine oder dem Messer zerkleinerte Muskel wird in den tarierten Kolben *a* eingeführt und durch nochmaliges Wägen die Menge festgestellt. Zur Anwendung gelangen 400 bis 500 g. Den so beschickten Kolben fügt man in die Apparatur ein und prüft durch Ansaugen der Luft, ob der

ganze Apparat dicht ist. Hierauf löst man die Verbindung bei *v* mit der Saugflasche, schließt die Hähne *l* und *m* und läßt langsam durch den Ansatz *b* 200 ccm kochend heißes Wasser zu dem zerkleinerten Muskel zufließen. Die durch das Wasser verdrängte und durch die Wärme expandierende Luft entweicht durch den Kaliapparat, der Zufluß des heißen Wassers muß daher langsam geschehen und reguliert werden. Wenn das Wasser eingefüllt ist, schließt man den Hahn *n* und heizt den Kolbeninhalt durch ein unter dem Kolben befindliches Flämmchen an. Unterdessen hat man den Dampferzeuger *o* zum Kochen gebracht und etwaige gelöste Kohlensäure aus dem zur Dampfbereitung verwendeten destillierten Wasser durch kräftiges Kochen vertrieben, so daß sofort nach dem Einfüllen des heißen Wassers auch das Einleiten des Dampfes erfolgen kann. Die Dampfzufuhr muß gut und dauernd reguliert werden, sie erfordert ständige Aufmerksamkeit, weil die Luft den Kaliapparat nicht zu schnell passieren darf und ein Zurücksteigen vermieden werden muß. Man steigert so langsam, unter zeitweiligem Umschütteln des Kolbens, die Temperatur bis zum Siedepunkt. Dann tritt bald der Zeitpunkt ein, bei dem selbst bei vollströmendem Dampf keine Gasblasen mehr durch den Kaliapparat entweichen. Alsdann fährt man mit der Dampfzufuhr noch ca. 15 Minuten fort. Der abströmende Dampf kommt dabei im Kühler zur Kondensation. Hierauf stellt man den Dampf ab, verbindet mit den laugehaltigen Waschflaschen w_1 und w_2 zwecks Zufuhr CO_2-freier Luft und beginnt zu saugen. Der Kolbeninhalt wird durch eine Gasflamme nahe der Siedetemperatur erhalten. Das jetzt die Lauge passierende Gas färbt dieselbe gelb. Wenn etwa 12 l Luft durchgesaugt sind, was nach 6 bis 8 Stunden der Fall ist, findet keine Gewichtszunahme des Kaliapparates mehr statt.

Nach Abzug des Ergebnisses des blinden Versuches (0,0138 g) und Umrechnung auf Volumprozente, bei Annahme eines spezifischen Gewichtes des Muskels von 1,04, ist der Versuch beendigt. Die Resultate sind in der Tabelle II unter Nr. 1 bis 6a angegeben.

Bei Nr. 1, 2, 3, 6 und 6a wurde das Material kurz vor dem Versuch aus der Leiche entnommen, während der Pferdemuskel unter Nr. 4 und 5 vom Schlächter bezogen wurde und über

Nacht im Eisschrank aufbewahrt wurde. Letzterer hat bei der Lagerung wahrscheinlich schon einen großen Teil der Kohlensäure abgegeben, daher die übereinstimmend niedrigen Zahlen bei Nr. 4 und 5.

Der geringe Gehalt an CO_2 bei Versuch 1 rührt von der Degeneration des verwendeten Muskels her.

II. Kohlensäureabgabe im Luftstrome.

Die Kohlensäureabgabe des Muskels im Luftstrome geht annähernd parallel mit der Kohlensäureproduktion der ausgeweideten Leiche. Bei längerer Dauer der Versuche und wegen der großen Menge des verwandten Muskels kann die Mitwirkung von Bakterien kaum vermieden werden. Die Kohlensäureentwicklung hält 6 Tage[1]) und länger an und kommt wahrscheinlich erst zum Stillstand, wenn die ganze organische Materie in Kohlensäure, Ammoniak und anorganischen Salzen zerfallen ist. Man wird also in der faulenden Substanz zu jeder Zeit Kohlensäure nachweisen können. Daraus ergibt sich die Unmöglichkeit, festzustellen, wann diejenige Kohlensäure entwichen ist, die als die Ursache der Totenstarre zu betrachten ist.

Zur Durchführung der Versuche wurde die im Arch. f. d. ges. Physiol. **165** S. 401 beschriebene und abgebildete Apparatur verwendet, mit der einzigen Abänderung, daß an Stelle des Zylinders, in den die Kaninchenleiche eingehängt wurde, hier ein Literkolben mit doppelt durchbohrtem Stopfen zur Verwendung gelangt, in dem der mit der Hackmaschine zerkleinerte Muskel eingeführt wird. Man verwendet etwa 300 g. Die Versuche wurden nur auf 2 bis $2^1/_2$ Tage ausgedehnt. Über Nacht wurde der Apparat, speziell der Kolben mit dem Muskel, durch Quetschhähne geschlossen. Dabei zeigt sich, daß die Luft im Kolben beim Stehen kohlensäurereicher wird, als bei andauerndem Saugen. Das Tempo des Saugens wird so reguliert, daß die Blasen, die den Kaliapparat passieren, gerade noch gezählt werden können.

Während der Muskel am ersten Tage noch schön rot aussieht, wird er am zweiten Tage, vielleicht unter dem Einfluß der Bakterien, braun und mißfarbig.

---

[1]) Siehe die Versuche im Arch. f. d. ges. Physiol. **165**, 452, 1916.

Wie bei allen diesen Versuchen, so muß auch hier das Ergebnis des blinden Versuchs vom gefundenen Kohlensäuregewicht in Abzug gebracht werden. Die Kohlensäureabgabe erreicht meist schon am ersten Tage die Menge der präformierten Kohlensäure, am zweiten Tage ist sie ein Mehrfaches davon. Näheres ergibt sich aus der Tabelle II unter Versuch 4, 5, 7, 8 und 9.

III. Kohlensäureabgabe des Muskels im Wasserstoffstrom.

Auch im Wasserstoffstrom produziert der Muskel Kohlensäure, die Menge ist aber wesentlich geringer als in Luft. Beim Pferdemuskel war das Verhältnis übereinstimmend in zwei Parallelversuchen Wasserstoff zu Luft wie 1 : 3,3, beim menschlichen Muskel 1 : 2,5. Merkwürdigerweise war bei letzterem die absolute Menge der in Luft und in Wasserstoff produzierten Kohlensäure in etwas längerer Zeit (siehe die Versuche 7, 8 und 9) geringer als beim Pferd. Ein Teil der im Wasserstoff erzeugten Kohlensäure ist präexistierend, beim Sauerwerden wird die Milchsäure das Bicarbonat zersetzen und die CO_2 freimachen, auch eine Neubildung von CO_2 durch fortlaufende Oxydationsprozesse mit Hilfe noch vorhandenen Sauerstoffs ist denkbar. Im übrigen gleichen die Versuchsanordnungen den Verhältnissen bei der „Verwesung“, d. h. der Zersetzung organischer Materie bei Ausschluß von Luftsauerstoff. Bekanntlich können hierbei auch, unter Mitwirkung von Bakterien, Wasserstoffgas und Kohlenwasserstoffe entstehen. Bei der verhältnismäßig kurzen Zeitdauer der ausgeführten Versuche war von solchen Verwesungsprodukten noch nichts zu beobachten.

Zusammenfassung.

Die Kohlensäure des absterbenden Muskels kann vom Abbau der Kohlenhydrate bei Fortsetzung physiologischer Prozesse und von der Zersetzung von Kohlenhydrat und Eiweiß durch Bakterien herrühren. Danach kann man unterscheiden:

1. Eine präexistierende Kohlensäure, bestehend aus wechselnden Mengen von freier Kohlensäure und Alkalicarbonat (ca. 20 Volumprozent) als Produkt des

Kohlenhydratabbaues. Aus dem Bicarbonat wird bei der postmortalen Säurebildung Kohlensäure in Freiheit gesetzt;

2. Kohlensäure, die, in Fortsetzung des physiologischen Kohlenhydratabbaues nach dem Tode, durch Oxydation von milchsaurem Alkali zu Alkalibicarbonat unter der Einwirkung neugebildeter Milchsäure entstanden ist;

3. Kohlensäure, erzeugt durch Spalt- und Sproßpilze aus Kohlenhydrat;

4. Kohlensäure durch Bakterientätigkeit bei der Eiweißfäulnis.

Mit der CO_2-Produktion bei der Eiweißfäulnis ist eine Bildung von basischen Körpern verknüpft, wodurch die normalen Beziehungen zwischen Alkalescenz und Acidität im Extrakte eine Veränderung erleiden und Eiweißkörper zur Lösung gelangen (siehe Tabelle I).

Die Entladung des Kohlensäuredruckes aus den Muskelfasern geschieht wahrscheinlich durch Diffusion, die vielleicht durch autolytische Zersetzungen erleichtert wird. Aus den in situ befindlichen Muskeln entweicht die Kohlensäure langsamer als aus den isolierten. Die Kohlensäureabgabe im Luftstrom ist dreimal so groß als im Wasserstoff.

Mit dem Entweichen der Kohlensäure aus der Muskelfaser löst sich die Totenstarre; der Moment des Verschwindens ist analytisch nicht festzuhalten, weil noch andere Kohlensäurequellen vorhanden sind.

Als Ursache der Totenstarre und der Lösung derselben kommt nur die innerhalb der Muskelfaser aus Kohlenhydrat entstehende Kohlensäure in Betracht.

Die Vorgänge bei der inneren oder Gewebs-Atmung sind, allem Anschein nach, identisch mit der Oxydation von Alkalilactat zu Alkalibicarbonat unter Verbrauch von Sauerstoff und der Kohlensäureentbindung bei der Einwirknng der durch Glykogenabbau entstehenden Milchsäure auf das gebildete Alkalibicarbonat.

DIE ARBEITEN DIESES HEFTES BILDEN DEN 2. TEIL DES FESTBANDES DER BIOCHEMISCHEN ZEITSCHRIFT,

HERRN GEH. MED.-RAT

PROFESSOR DR. JOHANNES ORTH

ZUR FEIER SEINES 70. GEBURTSTAGES

AM 14. JANUAR 1917

GEWIDMET.

Über die Abhängigkeit der keimtötenden und entwicklungshemmenden Wirkung von der Valenz.

(Versuche mit Arsen- und Antimonverbindungen an Bakterien, Protozoen und Hefezellen.)

Von

E. Friedberger und **G. Joachimoglu.**

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin und dem Hygieneinstitut der Universität Greifswald.)

(Eingegangen am 29. November 1916.)

Mit 1 Figur im Text.

Der Zusammenhang der Giftigkeit eines chemischen Körpers auf höhere und niedere Lebewesen mit der chemischen Konstitution ist uns nur bei sehr wenigen Giften bekannt, eine gesetzmäßige Abhängigkeit läßt sich bisher nicht feststellen. Die nachstehenden Versuche, die bereits vor Kriegsausbruch von uns gemeinsam in dem Pharmakologischen Institut in Berlin begonnen[1]) und jetzt zum Abschluß gekommen sind, sollen einen weiteren Beitrag zu dieser Frage liefern.

Die höhere Giftigkeit des dreiwertigen anorganischen Arsens gegenüber fünfwertigem bei Verwendung von Lösungen des gleichen As-Gehaltes ist bereits von Loew[2]) für höhere und niedere Pflanzen beobachtet worden, aber für die Spaltpilze direkt in Abrede gestellt. Entsprechend den ersteren Befunden Loews beobachtete auch W. Knop[3]), daß bewurzelte

[1]) Über einen Teil dieser Versuche an Bakterien hat bereits E. Friedberger in Gemeinschaft mit dem bei diesen Versuchen beteiligten Dr. Basani aus Florenz kurz berichtet (Sitzungen der Berliner Mikro-biolog. Ges. vom 9. Juli 1914; Berliner klin. Wochenschr. **1914**).

[2]) O. Loew, Arch. f. d. ges. Physiol. **32**, 112; **40**, 444 und Natürliches System der Giftwirkungen, München 1893, S. 21.

[3]) W. Knop, Ber. d. math.-phys. Kl. d. Kgl. Sächs. Ges. d. Wiss. zu Leipzig **1885**, 15.

Maispflanzen in einer Nährlösung, die Kaliumarsenat enthält, sich sehr gut entwickeln und normale Samen bringen. Demgegenüber ist arsenige Säure ein intensives Gift für diese Pflanzen. Die auffallenden Unterschiede im Verhalten höherer Pflanzen gegenüber Bakterien in den Versuchen von Loew veranlaßten uns, im Anschluß an eine frühere Arbeit des einen von uns [Joachimoglu[1])], diese Frage einer erneuten Prüfung zu unterziehen.

I. Versuche mit Bakterien.

Über die Abhängigkeit der Desinfektionskraft chemischer Stoffe von ihrer Valenz konnten wir in der bisherigen Literatur keine Angaben finden. Wir haben nun den Einfluß wäßriger Lösungen von Natriumarsenat und Natriumarsenit auf Bakterien verschiedener Widerstandsfähigkeit untersucht. Die verwandten Lösungen reagierten neutral und enthielten gleiche Mengen von Arsen, und zwar 1%. Es wurden dementsprechend von dem Na_2HAsO_4 $7H_2O$ mit 24,17% As 20,69 g in 500 g Wasser gelöst = 1% Arsen und von dem Arsenit $NaAs.O_2$[2]) mit 54,8% Arsen 9,12 g. Diese Lösungen mit je 1% As dienten als Stammlösungen.

Bei den Versuchen über die Einwirkung auf Bakterien kam es uns natürlich weniger darauf an, die absolute Desinfektionskraft möglichst einwandfrei zu ermitteln, als vielmehr auf einen Vergleich zwischen den Arsenlösungen verschiedener Valenz unter sonst absolut gleichen Bedingungen. Wir konnten uns deshalb einer sehr einfachen Technik bedienen. Es wurden, soweit nicht anders angegeben, 24stündige Agarkulturen der Bakterien benutzt; eine Öse Material wurde in 10 ccm Bouillon aufgeschwemmt. Von dieser Bouillonaufschwemmung wurden je 2 Tropfen in verschiedene Verdünnungen unserer Stammlösungen eingebracht (Volumen 2 ccm); dann wurden sofort und nach verschieden langem Aufenthalt im Brutschrank mit je 2 Tropfen des Bakterien-Arsengemisches Agarplatten gegossen und die Keimzahlen nach 24stündigem Wachstum verglichen oder auch je eine Öse auf Agarröhrchen ausgestrichen. Von einer Zählung der aufgegangenen Kolonien

[1]) Diese Zeitschr. 70, 144, 1915.

[2]) Theoretisch enthält dieses Salz 57,68% As.

nahmen wir Abstand, es wurde nur die ungefähre Wachstumsdichte geschätzt. In nachstehenden Tabellen bedeutet +++ „unzählbar“, ++ „massenhaft Bakterien“, + „noch mehrere Kolonien in jedem Gesichtsfeld bei Zählung mit Wolfhügel“, v. K. „vereinzelte Kolonien“, g. v. K. „ganz vereinzelte Kolonien“.

Wir haben für die Versuche einen Vibrio, der unter der Bezeichnung „Vibrio Stade“ sich in unserer Sammlung befand, und „Vibrio Metschnikoff“ unserer Sammlung als relativ wenig widerstandsfähige Bakterien, einen Staphylococcus aureus aus Eiter als einen Vertreter der gegen Desinfektionsmittel resistenteren benutzt, ferner einen Typhus und einen resistenten Prodigiosusstamm unserer Sammlung. Wir lassen in nachstehendem die einzelnen Versuchsprotokolle in Tabellen folgen:

Prodigiosus.

1tägige Kultur, 1 Öse in 10 ccm Bouillon, davon 2 Tropfen in jedes Röhrchen.

Gehalt der Lösung an Arsen pro ccm	Sofort		Nach 2 Std.		Nach 18 Std.	
	5 w.[1]	3 w.	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.
0,01	+++	+++	+++	—	—	—
0,005	+++	+++	+++	++	—	—
0,001	+++	+++	+++	++	++	v. K.[2]
0,0008	+++	+++	+++	++	+++	g. v. K[3]
0,0005	+++	+++	+++	++	+++	g. v. K.
0,0002	+++	+++	+++	+++	+++	g. v. K.
0,0001	+++	+++	+++	+++	+++	+
0,00005	+++	+++	+++	+++	+++	+

Prodigiosus.

3tägige Kultur, Versuchsanordnung wie vorher.

Gehalt der Lösung an Arsen pro ccm	Sofort		Nach 2 Std.		Nach 4 Std.		Nach 18 Std.		Nach 26 Std.	
	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.
0,01	+++	+++	+++	3 Kol.	+++	—	1 Kol.	—	3 Kol.	—
0,008	+++	+++	+++	5 Kol.	+++	—	v. K.	—	v. K.	—
0,005	+++	+++	+++	vereinzelt	+++	18 Kol.	g. v. K.	—	g. v. K.	—
0,002	+++	+++	+++	++	+++	vereinzelt	g. v. K.	—	g. v. K.	—
0,001	+++	+++	+++	++	+++	++	+	—	g. v. K.	—
0,0005	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	vereinzelt	+	3 Kol.
0,0001	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	++	+
0,00005	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	++

[1]) 5 w. = 5wertig; 3 w. = 3wertig.

[2]) v. K. = vereinzelte Kolonien.

[3]) g. v. K. = ganz vereinzelte Kolonien.

Staphylokokken.

24stündige Kultur, Versuchsanordnung wie vorher.

Gehalt der Lösung an Arsen pro ccm	Sofort		Nach 3 Std.		Nach 6 Std.		Nach 10 Std.		Nach 24 Std.	
	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.
0,01	+++	+	+	+	+	v. K.	+	v. K.	+	v. K.
0,008	+++	++	++	+	++	+	++	+	++	g. v. K.
0,005	+++	+++	++	+	++	+	++	+	++	g. v. K.
0,002	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	+
0,001	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	+
0,0005	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
0,0001	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
0,00005	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++

Typhus.

24stündige Kultur, Versuchsanordnung wie vorher.

Gehalt der Lösung an Arsen pro ccm	Sofort		Nach 4 Std.		Nach 16 Std.		Nach 24 Std.	
	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.
0,01	+++	+	+++	4 Kol.	++	–	++	–
0,008	+++	+	+++	v. K.	+++	–	+++	–
0,005	+++	++	+++	g. v. K.	+++	–	+++	–
0,002	+++	+++	+++	++	+++	+	+++	30 Kol.
0,001	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+
0,0005	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++
0,0001	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,00005	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Vibrio Stade.

2tägige Agarkultur. Versuchsanordnung wie vorher.

Gehalt der Lösung an Arsen pro ccm	Sofort		Nach 12 Std.		Nach 24 Std.	
	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.
0,01	+++	–	++	–	+	–
0,008	+++	–	+++	–	++	–
0,005	+++	+	+++	–	+++	–
0,002	+++	+	+++	+	+++	–
0,001	+++	+	+++	+	+++	–
0,0005	+++	++	+++	++	+++	–
0,0001	+++	+++	+++	+++	+++	+
0,00005	+++	+++	+++	+++	+++	++

In einer Versuchsreihe haben wir die entwicklungshemmende Eigenschaft der beiden Arsenlösungen gegenüber den untersuchten Bakterien geprüft. Es wurden Verdünnungen der Arsenlösungen in Bouillon angesetzt mit einem Arsengehalt von 1 : 200, 1 : 1000, 1 : 10000, 1 : 100000. Von diesen Bouillonverdünnungen wurde je 1 ccm mit 2 Tropfen einer Aufschwemmung von

1 Öse der 24stündigen Agarkultur in 10 ccm Bouillon versetzt Das Wachstum der Bakterien zeigt die folgende Tabelle.

Arsenlösung	1/200		1/1000		1/10000		1/100000	
	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.
Vibrio Stade	++	–	++	–	+++	–	+++	–
Vibrio Metschnikoff . .	+	–	+	–	++	–	+++	–
Prodigiosus	++	–	++	–	++	++	+++	+++
Staphylokokken . . .	++	–	++	–	++	(±)	+++	+
Typhus	+	–	++	–	++	–	++	–

Wir haben dann noch einen Versuch mit organischen Arsenverbindungen angestellt und benutzten als 5wertiges Arsen Atoxyl und Arsacetin, als 3wertige Arsenverbindungen Salvarsan[1]) und Arsenophenylglycin. Auch hier wurden Lösungen mit 1 $^0/_0$ Arsengehalt hergestellt. Dementsprechend wurden folgende Mengen der einzelnen Arsenverbindungen auf 100 g Wasser benutzt:

5 wertig: { Atoxyl . . . . 4,147 g,
Arsacetin . . . . 4,673 g.

3 wertig: { Salvarsan . . . . 2,940 g,
Arsenophenylglycin . . . 3,108 g.

Prodigiosus.

24stündige Kultur, Versuchsanordnung wie vorher.

Menge des Desinficiens	Sofort				Nach 6 Std.				Nach 24 Std.			
	5 w.		3 w.		5 w.		3 w.		5 w.		3 w.	
	Atoxyl	Arsacetin	Salvarsan	Arseno-phenylglycin	Atoxyl	Arsacetin	Salvarsan	Arseno-phenylglycin	Atoxyl	Arsacetin	Salvarsan	Arseno-phenylglycin
0,01	+++	+++	+++	+++	+++	+++	–	+++	+++	+++	–	+++
0,005	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	–	+++
0,001	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	–	+++
0,0005	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	–	+++
0,0001	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	–	+++
0,00005	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	–	+++
0,00001	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	–	+++
0,000005	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+	+++

Aus den Versuchen ergibt sich übereinstimmend die größere keimtötende und entwicklungshemmende

[1]) Salvarsanlösungen wurden schwach alkalisiert.

Kraft der 3wertigen anorganischen und auch einer organischen Arsenverbindung gegenüber den 5wertigen.

Weitere Versuche über die keimtötende Wirkung 3- und 5wertiger Metalloide haben wir dann noch mit 3- und 5-wertigen Antimonsalzen angestellt. Als 3wertiges Antimonsalz benutzten wir den Brechweinstein $(KSbOC_4H_4O_6)_2H_2O$ (Kalium-antimonyltartrat). Die Dreiwertigkeit des Antimons ergibt sich aus seiner Konstitutionsformel:

$$\begin{array}{l} COOK \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ COO-Sb=O. \end{array}$$

Als 5wertiges Salz diente uns das Kaliumpyroantimoniat $K_2H_2Sb_2O_7 + 6H_2O$, ein Salz der Pyroantimonsäure:

$$\begin{array}{l} \qquad\quad\;\; /OH \\ O = Sb \leftarrow OH \\ \qquad\quad\;\; \backslash O \\ \qquad\quad\;\; / \\ O = Sb \leftarrow OH \\ \qquad\quad\;\; \backslash OH \end{array}$$

Hierbei ist allerdings zu berücksichtigen, daß im Gegensatz zu den beiden anorganischen Arsensalzen im Brechweinstein ein organisches, im Kaliumpyroantimoniat ein anorganisches Salz vorliegt. Wir waren aber zur Verwendung dadurch veranlaßt, daß die 3wertigen anorganischen Antimonite in reinem Zustand schwer zugänglich sind, im Gegensatz zu den Arseniten. Das Wesentliche war ja für uns auch die Dreiwertigkeit, wie sie im Brechweinstein zweifelsohne vorliegt.

Die Lösungen wurden nach dem gleichen Prinzip wie die des Arsens hergestellt, d. h. es wurden 2,249 g Kaliumpyroantimoniat in 100 g Wasser gelöst und dementsprechend 2,765 g Kaliumantimonyltartrat in der gleichen Menge Wassers. So resultierten zwei Lösungen mit 1% Sb-Gehalt. Die Lösungen wurden mit Soda genau neutralisiert; die Technik der Anwendung gegenüber Bakterien war die gleiche wie in den Arsenversuchen. Wir lassen in nachstehendem die Protokolle folgen:

Typhus.

24stündige Kultur, Versuchsanordnung wie vorher.

Gehalt der Lösung an Antimon pro ccm	Sofort		Nach 4 Std.		Nach 16 Std.		Nach 24 Std.	
	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.
0,01	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
0,008	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
0,005	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
0,002	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,001	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,0005	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,0001	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,00005	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Staphylokokken.

24stündige Kultur, Versuchsanordnung wie vorher.

Gehalt der Lösung an Antimon pro ccm	Sofort		Nach 3 Std.		Nach 24 Std.	
	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.
0,01	+++	+++	+++	+++	+++	—
0,005	+++	+++	+++	+++	+++	(∓)
0,001	+++	+++	+++	+++	+++	+
0,0005	+++	+++	+++	+++	+++	++
0,0001	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,00005	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Vibrio Metschnikoff.

24stündige Kultur, Versuchsanordnung wie vorher.

Gehalt der Lösung an Antimon pro ccm	Sofort		Nach 4 Std.		Nach 24 Std.	
	5 w. Kaliumpyro-antimoniat	3 w. Kaliumanti-monyltartrat	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.
0,01	+++	—	+++	—	5 Kol.	—
0,008	+++	—	+++	—	++	—
0,005	+++	+	+++	+	+++	—
0,002	+++	+	+++	+	+++	—
0,001	+++	+++	+++	++	+++	—
0,0005	+++	+++	+++	++	+++	—
0,0001	+++	+++	+++	++	+++	—
0,00005	+++	+++	+++	+++	+++	—

Vibrio Stade.

24stündige Kultur, Versuchsanordnung wie vorher.

Gehalt der Lösung an Antimon pro ccm	Sofort		Nach 4 Std.		Nach 16 Std.		Nach 24 Std.	
	5 w. Kalium-pyroantimoniat	3 w. Kalium-antimonyl-tartrat	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.	5 w.	3 w.
0,01	+++	+	+++	2 Kol.	++	–	++	–
0,008	+++	+	+++	2 Kol.	++	–	++	–
0,005	+++	++	+++	g. v. K.	++	–	++	–
0,002	+++	++	+++	v. K.	++	–	++	–
0,001	+++	++	+++	v. K.	++	–	++	–
0,0005	+++	++	+++	+	++	–	++	–
0,0001	+++	++	+++	+	++	–	++	–
0,00005	+++	++	+++	++	++	–	++	–

Die Versuche an Bakterien mit Antimonverbindungen führten zum gleichen Resultat wie die mit Arsenverbindungen.

II. Versuche mit Protozoen.

Analoge Versuche wie mit Bakterien haben wir dann mit Protozoen in vivo und in vitro angestellt. Wir benutzten dazu einen Naganastamm, für dessen freundliche Überlassung wir Herrn Geheimrat Händel zu Dank verpflichtet sind. Als Infektionsmaterial diente uns das Blut von mit diesem Stamm infizierten Ratten, das immer möglichst gerade auf der Höhe der Infektion entnommen wurde, nicht bei moribunden Tieren, bei denen nach früheren Untersuchungen des einen von uns[1]) die Trypanosomen eine verringerte Widerstandskraft zeigen. Es wurde für die jedesmaligen Versuche eine Aufschwemmung von 15 Tropfen trypanosomenhaltigen Schwanzblutes in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung hergestellt.

Von dieser Stammlösung wurde je $^1/_2$ ccm mit der gleichen Menge der As- bzw. Sb-Verdünnungen gemischt. Die Menge, die in den Tabellen angegeben ist, ist immer diejenige, die nach der Mischung des Desinfiziens mit der Trypanosomenaufschwemmung sich ergab. Bei Zimmertemperatur wurde dann die Abtötungszeit zunächst mikroskopisch ermittelt. Das Resultat zeigt die nachstehende Tabelle. Es ergibt sich

[1]) Friedberger, Über die Behandlung der experimentellen Nagana mit Mischungen von Atoxyl und Thioglykolsäure. Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 38.

wiederum die bedeutend stärkere Wirkung der 3wertigen Metalloide.

Abtötungszeit in vitro				Abtötungszeit in vitro			
As	5wertig	3wertig	Kontrolle	Sb	5wertig	3wertig	Kontrolle
0,01	> 40 Min.	4 Min.	> 1 Std.	0,01	> $1^{1}/_{4}$ Std.	5 Min.	> $1^{1}/_{2}$ Std.
0,001	> 30 Min.	7 „	tot nach 1 Std.	0,001	> 1 Std.	10 „	> $1^{1}/_{2}$ Std.
0,0005	tot nach $1^{1}/_{2}$ Std.	13 „	> $1^{1}/_{2}$ Std.	0,0005	tot nach $1^{1}/_{4}$ Std.	15 „	> 3 Std.
0,0001	tot nach $1^{1}/_{2}$ Std.	1 Std.	> $1^{1}/_{2}$ Std.	0,0001	—	1 Std.	—

Bei den Versuchen in vivo wurden die Mischungen der Desinfizienzien mit dem infizierten Blut[1]) im Volumen von 1 ccm normalen Ratten subcutan eingespritzt.

As	Kontakt in vitro Min.	Gewicht der Ratten g	5wertig: Trypanosomen im Blut gefunden nach	5wertig: tot an Infektion nach	Kontakt in vitro Min.	Gewicht der Ratten g	3wertig: Trypanosomen im Blut gefund. nach Tagen	3wertig: tot an Infektion nach Tagen
0,00025	25	120	3 Tagen	6 Tagen	15	110	∞	∞
0,000005	30	130	4 „	7 „	20	100	∞	∞ (nach 4 Wochen tot ohne Trypanos.)

Sb	Kontakt in vitro Min.	Gewicht der Ratten g	5wertig: Trypanosomen im Blut gefunden nach	5wertig: tot an Infektion nach	Kontakt in vitro Min.	Gewicht der Ratten g	3wertig: Trypanosomen im Blut gefund. nach Tagen	3wertig: tot an Infektion nach Tagen
0,005	30	220	4 Tagen	6 Tagen	5	210	∞	∞ (nach 7 Tagen tot ohne Tryp.)
0,0005	25	110	3 „	7 „	10	110	∞	∞
0,00025	30	140	2 „	6 „	15	110	∞	∞ (nach 14 Tagen tot ohne Tryp.)

[1]) Das infizierte Blut für diese sowohl wie für die Reagensglasversuche stammte natürlich stets von unbehandelten Passagetieren (um eine Arzneifestigkeit der Trypanosomen zu verhüten).

Auch in diesen Versuchen ergibt sich in Übereinstimmung mit den Reagensglasversuchen die stärkere Wirkung des 3wertigen Metalloids. Es steht das in Übereinstimmung mit den Versuchen von Ehrlich[1]), der schon bei den von ihm geprüften organischen Arsenverbindungen auf die ausschließliche Bindung des 3wertigen As-Restes durch die Trypanosomen hingewiesen hat, während das 5wertige keine Affinität zu den Receptoren des Zellprotoplasmas besitzen soll.

Dementsprechend fanden auch Laveran[2]), Mesnil und Brimont[3]) sowie Neven[4]) die 3wertige arsenige Säure wirksamer als die Arsensäure, und das gleiche gilt für die Antimonverbindungen. Auch in unseren Versuchen unter Verwendung von Lösungen gleichen Gehalts des Metalloids tritt das nach den oben mitgeteilten Versuchen hervor.

III. Versuche mit Hefezellen.

Über die Wirkung der arsenigen Säure auf Hefe hat schon im Jahre 1854 Savitsch[5]) berichtet. Nach seinen Angaben wird die Gärung durch Zusatz von arseniger Säure zu Hefe nicht sofort gehemmt. Erst wenn die arsenige Säure 2 Tage lang auf die Hefe eingewirkt hatte, zeigte es sich, daß die arsenhaltige Hefe nicht so wirksam war wie normale Hefe. Eingehende Versuche hat später Johannsohn[6]) unter Boehm angestellt und gefunden, daß durch arsenige Säure bei verhältnismäßig hohen Konzentrationen die Hefegärung erheblich gehemmt wird. Das Resultat einer Versuchsreihe, bei der zu einer Lösung von 5,0 g Kandiszucker in 75 ccm Wasser 5,0 g Hefe und verschiedene Mengen arseniger Säure zugesetzt wurden, ist aus folgender Tabelle ersichtlich.

Während also beim letzten Versuch (ohne Arsen) nach 24 Stunden 84,2% des Zuckers vergoren waren, sind bei den

---

[1]) Ehrlich, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **42**, Januar 1909.

[2]) Laveran, Annales de l'Inst. Pasteur **1902**.

[3]) Mesnil und Brimont, Compt. rend. Soc. Biol. **64**, 820, 1008.

[4]) Neven, Inaug.-Diss., Bern 1909.

[5]) B. Savitsch, Meletemata de acidi arsenicosi efficacia. Inaug.-Diss., Dorpat 1854.

[6]) N. Johannsohn, Die Einwirkung der arsenigen Säure auf Gärungsvorgänge. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **2**, 99, 1874; Inaug.-Diss., Dorpat 1873.

anderen Versuchen erheblich kleinere Mengen gespalten worden. Eine vollständige Hemmung der Hefegärung findet auch bei starken Konzentrationen (2 % As_2O_3) nicht statt.

	Arsenige Säure g	% des vergorenen Zuckers
A	1,5	24,60
B	1,25	33,4
C	1,0	43,4
D	0,75	46,0
E	0,5	50,0
F	0,25	52,4
G	0,025	60,6
H	—	84,2

Während Johannsohn durch Titrationen mit Fehlingscher Lösung die Menge des unvergorenen Zuckers bestimmte, um daraus die Menge des vergorenen Zuckers zu berechnen, hat H. Schulz[1]) eine ganz andere Versuchsanordnung angewandt, um die Wirkung speziell kleiner Mengen arseniger Säure auf Hefe zu studieren. In seinen Versuchen trieb der durch Kohlensäureentwicklung bedingte positive Druck Quecksilber, das sich in einem Steigrohr befand, in die Höhe. Die Gärflüssigkeit befand sich in einem luftdicht verschlossenen Zylinder. Der Stand der Quecksilbersäulen wurde jede Viertelstunde notiert. Schulz mißt also die durch die Kohlensäureentwicklung hervorgerufenen Druckdifferenzen und nicht die Menge CO_2. Entsprechend seinen Befunden bei Sublimat und anderen Giften fand Schulz, daß auch die arsenige Säure bei einer geringen Konzentration (1 : 40000) die Gärung günstig beeinflußt.

Weiter hat sich Knoesel[2]) mit diesem Gegenstand beschäftigt. Er setzte zu einer Aussaat von 200 bzw. 2000 Hefezellen pro Kubikmillimeter verschiedene Mengen Natriumarsenit und fand, daß große Mengen des Salzes das Vermehrungs- und Gärungsvermögen der Hefe aufheben. Wird der Versuch bei Kellertemperatur ausgeführt, so sind die dazu erforderlichen Mengen geringer als bei Ausführung des Versuchs bei Zimmertemperatur. Geringe Mengen Natriumarsenit steigern das Inversions- und Gärvermögen der Hefe.

---

[1]) H. Schulz, Über Hefegifte. Arch. f. d. ges. Physiol. **42**, 533, 1888.

[2]) Chr. Knoesel, Die Einwirkung einiger Antiseptica auf alkoholische Gärung. Centralbl. f. Bakt. II. Abt. **8**, 299, 1902.

Wehmer[1]) gibt an, daß 1 bis 2 $^0/_0$ Kaliumarsenit die Vermehrung der Hefe aufhebt und die Gärung verzögert. Aber auch bei einem Gehalt von 10 $^0/_0$ Kaliumarsenit wird die Gärung nicht vollständig unterdrückt.

Bei unseren Versuchen kam es darauf an, die Wirkung der arsenigen Säure und Arsensäure auf Hefe zu vergleichen, und speziell wollten wir entscheiden, welche der beiden Säuren auf Hefe wirksamer ist.

Es seien zunächst zwei Versuche mitgeteilt, bei denen eine sehr einfache Versuchsanordnung angewandt ist. Bei Versuch 1 wurde eine Arsenit- bzw. Arsenatlösung mit 5 $^0/_0$ As benutzt. Die Lösungen waren genau neutralisiert. Auf die Reaktion der angewandten Lösungen muß man besonders achten, weil sowohl Wasserstoffionen wie auch Hydroxylionen je nach der Konzentration die Hefegärung mehr oder weniger beeinflussen können[2]). Als Kontrolle diente eine Salzlösung folgender Zusammensetzung: 0,2 g Magnesiumsulfat ($MgSO_4$ + $7H_2O$) und 0,3 primäres Kaliumphosphat (KH_2PO_4) in 100 ccm Wasser gelöst. Man kann statt dieser Lösung auch Leitungswasser benutzen. Die geringen Salzmengen, die darin enthalten sind, genügen, um eine Schädigung der Hefe durch das Wasser zu verhindern.

Die verwendete frische Preßhefe, die wir dem Institut für Gärungsgewerbe in Berlin verdanken, wurde ebenfalls in Salzlösung aufgeschwemmt. Als Zuckerlösung verwendeten wir eine 4 $^0/_0$ige Traubenzuckerlösung. Die Lösungen wurden in Reagensgläsern gemischt und dann in gewöhnliche Gärröhrchen nach Einhorn, wie sie für Zuckerbestimmungen im Harn benutzt werden, übergeführt. Die Gärung ging bei einer Temperatur von 30° vor sich. Die Menge der nach verschiedenen Zeiten entwickelten Kohlensäure ist aus folgender Tabelle ersichtlich.

Es findet also auch bei dieser ziemlich hohen Konzentration keine vollständige Hemmung der Hefegärung statt, was mit den Erfahrungen der oben genannten Autoren (Johannsohn,

---

[1]) C. Wehmer, Über die Wirkung einiger Gifte auf Hefe und Gärung. Chem.-Zeitg. 23, 163, 1899.

[2]) Vgl. H. Euler und P. Lindner, Chemie der Hefe und der alkoholischen Gärung, Leipzig 1905, S. 287.

Wehmer) übereinstimmt. Es geht aber deutlich aus diesem Versuch hervor, daß das 3wertige Arsen in höherem Maße die Kohlensäureentwicklung hemmt als das Arsenat. Bei einer geringeren As-Konzentration (1 : 80) ist dieser Unterschied ebenfalls deutlich, wie aus Tabelle II hervorgeht.

Tabelle I.

As-Konzentration 1 : 40.

Röhrchen	Arsenitlösung 5 % As ccm	Arsenatlösung 5 % As ccm	Salzlösung ccm	Hefeaufschwemmung 20 % ccm	Traubenzuckerlösung 4 % ccm	CO_2 in ccm nach 30 Min.	1 Stunden	2 Stunden	3 Stunden	4 Stunden	5 Stunden
1	—	—	5	3	2	0,1	2,0	2,9	3,2	4,5	4,9
2	5	—	—	3	2	—	Spur	0,2	0,7	0,9	1,3
3	—	5	—	3	2	—	0,2	0,6	1,8	2,8	4,2

Tabelle II.

As-Konzentration 1 : 80.

Röhrchen	Arsenitlösung 2,5 % As ccm	Arsenatlösung 2,5 % As ccm	Salzlösung ccm	Hefeaufschwemmung 20 % ccm	Traubenzuckerlösung 4 % ccm	CO_2 in ccm nach 30 Min.	1 Stunden	2 Stunden	3 Stunden	4 Stunden	5 Stunden
1	—	—	5	3	2	Spur	0,9	3,8	4,8	5,2	5,8
2	5	—	—	3	2	—	Spur	0,8	2,4	3,1	4,4
3	—	5	—	3	2	—	0,2	2,2	4,5	5,1	5,6

Es erschien uns zweckmäßiger, für die folgenden Versuche, in denen verdünnte As-Lösungen benutzt wurden, eine andere Versuchsanordnung anzuwenden, die zuverlässigere Resultate gibt, da bei den Einhornschen Gärröhrchen ein Kohlensäureverlust am offenen Schenkel möglich ist. Auch setzt sich die Hefe nach kurzer Zeit zu Boden, und es ist nicht möglich, durch Schütteln sie in der ganzen Flüssigkeit wieder gleichmäßig zu verteilen. Es wurde folgendermaßen verfahren: Die Gärung ging in Erlenmeyerkölbchen von 80 ccm Inhalt vor sich, die sich in einem Wasserbad von 28° befanden. Die entwickelte Kohlensäure wurde in einer Hempelschen Gasbürette über Quecksilber aufgefangen und ihr Volumen bestimmt. Vor jeder Ab-

lesung wurden die Kölbchen tüchtig geschüttelt, und um das Schütteln wirksamer zu gestalten, brachten wir in die Gärflüssigkeit je 0,5 g Glasperlen von Stecknadelkopfgröße ein. Statt Traubenzucker benutzten wir in diesen Versuchen Rohrzucker und statt Salzlösung Leitungswasser. Ein solcher Versuch bei einer As-Konzentration 1 : 1000 ist in Tabelle III wiedergegeben.

Tabelle III.

As-Konzentration 1 : 1000.

Kölbchen	Arsenitlösung 1 % As ccm	Arsenatlösung 1 % As ccm	Leitungswasser ccm	Saccharoselösung 10 % ccm	Hefe g	CO_2 in ccm nach 10 Minuten	20	35	50	65	80	95	110	125	165	195
1	—	—	20	20	0,5	8,0	10,8	12,0	12,4	14,8	24,8	30,2	34,2	40,2	50,6	65,4
2	4	—	16	20	0,5	7,1	9,6	10,6	10,8	10,8	10,9	10,9	11,0	12,8	14,2	15,4
3	—	4	16	20	0,5	7,5	9,9	11,6	12,0	13,6	22,9	30,0	31,8	34,2	38,2	46,0

Es zeigt sich auch hier, daß das Arsenit bei gleicher As-Konzentration die Kohlensäureentwicklung stärker hemmt als das Arsenat.

Tabelle IV.

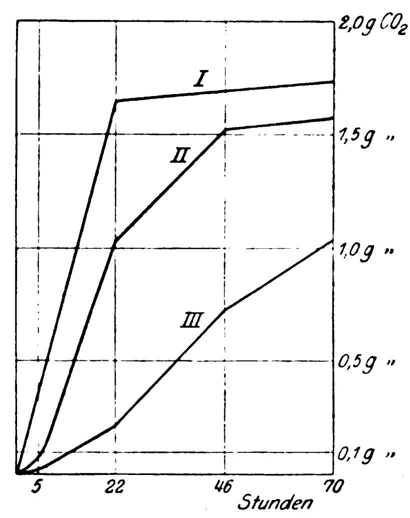
As-Konzentration 1 : 10000.

Kölbchen	Arsenitlösung 1 % As ccm	Arsenatlösung 1 % As ccm	Leitungswasser ccm	Saccharoselösung 10 % ccm	Hefe g	CO_2 in ccm nach 15 Minuten	30	45	60	75	90	105	140	180
1	—	—	—	20	0,5	5,8	11,4	15,8	19,8	24,8	29,4	34,6	43,6	59,4
2	0,4	—	19,6	20	0,5	3,8	7,2	10,6	14,0	18,4	22,6	26,2	32,0	49,6
3	—	0,4	19,6	20	0,5	4,0	8,4	14,6	17,2	21,2	25,6	29,6	38,0	54,0

Bei dieser Konzentration sind die Unterschiede zwischen Arsenit und Arsenat kaum noch wahrzunehmen. Beide hemmen in fast gleichem Maße, das Arsenit allerdings etwas mehr, die Kohlensäureentwicklung.

Verdünntere Arsenit- und Arsenatlösungen, entsprechend 1 : 30000, 1 : 50000, 1 : 100000 As beeinflussen die Gärung nicht, auch nicht in dem Sinne, daß eine Zunahme der Kohlensäureentwicklung stattfindet. Von einer Wiedergabe der Protokolle dieser Versuche können wir deshalb absehen.

Will man den Gärungsversuch tagelang fortsetzen, so ist es besser, statt der oben erwähnten Versuchsanordnungen den Verlauf der Gärung durch Gewichtsbestimmung der entwickelten Kohlensäure zu verfolgen. Am besten geschieht dies in den bekannten Buchnerschen Gärkölbchen. Eine solche Versuchsreihe, die wir mit verschiedenen As-Konzentrationen ausgeführt haben, sei noch hier angeführt:



Kurve 1: I. Kontrolle. II. Arsenat. III. Arsenit.

Die Gärung ging in diesem Versuch bei 22° vor sich, um die Fehler, die durch den Temperaturabfall beim Wägen bedingt sind, möglichst zu eliminieren. Es schien uns auch zweckmäßig, zu der Gärflüssigkeit Hefeextrakt zuzusetzen, damit bei der langen Versuchsdauer die Hefe über genügende Nährstoffe verfügt. Ein solcher Versuch ist in Tabelle V wiedergegeben. Die bei einer Konzentration 1:1000 Arsen in Form von Arsenit bzw. Arsenat erhaltenen Resultate sind auch aus der Kurve 1 ersichtlich. Bei einem Versuch, den wir ohne Hefeextraktzusatz ausgeführt haben, erhielten wir dasselbe Resultat.

Es geht übereinstimmend aus diesen Versuchen hervor, daß die arsenige Säure in Konzentrationen von 1:40 bis 1:1000 As die Hefegärung erheblich hemmt. Die Arsensäure verzögert bei den gleichen Konzentrationen viel weniger als die arsenige Säure die Hefegärung.

Alle unsere Versuche zeigen die Tatsache der höheren Giftigkeit des 3wertigen Arsens und Antimons im Vergleich zum 5wertigen. In Übereinstimmung mit den Befunden Loews bei höheren Pflanzen sehen wir also, daß auch bei Mikroorganismen das 3wertige Arsen wirk-

samer ist als das 5wertige. Es dürfte sich also hier um ein gesetzmäßiges Verhalten gegenüber allen Lebewesen handeln. Wir können wohl annehmen, daß nur 3wertiges Arsen giftig wirkt und 5wertiges überhaupt nur insofern, als es durch den Einfluß des lebenden Protoplasmas in 3wertiges reduziert wird. Daß den Organen und einigen Eiweißstoffen ein bedeutendes Reduktionsvermögen zukommt, ist durch die grundlegenden Untersuchungen A. Heffters[1]) einwandfrei sichergestellt. Dementsprechend hat Joachimoglu[2]) auch bereits in Versuchen an Hunden gezeigt, daß das subcutan zugeführte Arsenat im Harn in Form von Arsenit ausgeschieden wird.

Tabelle V.

Kölbchen	Arsenitlösung 1% As bzw. 0,1%	Arsenatlösung 1% As bzw. 0,1%	Hefeextraktlösung 20% ccm	As-Konzentration	Saccharoselösung 20% ccm	Hefe g	CO_2 in g nach 5 Stunden	22 Stunden	46 Stunden	70 Stunden
1	—	4 ccm	16,0	1 : 1000 As^{V}	20	0,5	0,06	1,05	1,55	1,59
2	4 ccm	—	16,0	1 : 1000 As^{III}	20	0,5	0,02	0,21	0,74	1,08
3	—	0,4 ccm	19,6	1 : 10000 As^{V}	20	0,5	0,17	1,525	1,595	1,61
4	0,4 ccm	—	19,6	1 : 10000 As^{III}	20	0,5	0,13	1,54	1,62	1,62
5	—	0,8 ccm 0,1% As	19,2	1 : 50000 As^{V}	20	0,5	0,26	1,56	1,59	1,59
6	0,8 ccm 0,1% As	—	19,2	1 : 50000 As^{III}	20	0,5	0,23	1,52	1,58	1,58
7	—	0,4 ccm 0,1% As	19,6	1 : 100000 As^{V}	20	0,5	0,24	1,54	1,59	1,61
8	0,4 ccm 0,1% As	—	19,6	1 : 100000 As^{III}	20	0,5	0,25	1,55	1,58	1,6
9	—	—	20,0	—	20	0,5	0,29	1,62	1,69	1,72

Heffter hat bereits auf das analoge Verhalten der thermostabilen und durch Blausäure nicht vergiftbaren Eiweiß-„reduktasen“, die nicht als Fermente anzusehen sind, mit gewissen chemischen Verbindungen, die gleichfalls eine Sulfhydryl- oder SH-Gruppe enthalten, hingewiesen, wie z. B. Thiophenol, Cystein, Thioglykolsäure, Benzylmercaptan und Äthylmercaptan.

Dementsprechend ist es Friedberger im Jahre 1908 (l. c.)

[1]) A. Heffter, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 215, 1903; Mediz.-naturw. Arch. 1, Heft 1, 1907.

[2]) G. Joachimoglu, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 80, 8, 1916.

gelungen, die an sich geringe trypanosomentötende Wirkung des Atoxyls durch Zusatz der reduzierenden Thioglykolsäure ganz bedeutend zu erhöhen.

Zusammenfassung.

1. In Versuchen an Bakterien und Protozoen wird gezeigt, daß dem 3wertigen anorganischen und organischen Arsen (Natriumarsenit, Salvarsan) eine höhere keimtötende und entwicklungshemmende Wirkung zukommt als dem 5wertigen organischen und anorganischen Arsen (Natriumarsenat, Atoxyl, Arsacetin).

2. Ein entsprechendes Verhalten ergibt sich beim Vergleich des Brechweinsteins (3wertiges Antimon) mit dem Kaliumpyroantimoniat (5wertiges Antimon). Das 3wertige Antimon ist wirksamer als das 5wertige.

3. Auf die Hefegärung wirken Arsenite viel stärker hemmend als Arsenate.

Über die Vegetation von Hefen und Schimmelpilzen auf heterocyklischen Stickstoffverbindungen und Alkaloiden.

Von

Felix Ehrlich.

(Aus dem Landwirtschaftlich-technologischen Institut der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 30. November 1916.)

Die Art der organischen Stickstoffverbindungen, die den Mikroorganismen zur Deckung ihres Stickstoffbedarfs dienen können, ist sehr mannigfaltig. Außer den aus Eiweiß abgespaltenen α-Aminosäuren, die in der Natur die Hauptstickstoffnahrung für die meisten Mikroorganismen bilden, kommen hierfür sehr verschiedenartig substituierte Ammoniakverbindungen, Amine und Aminosäuren, in Betracht. Entscheidend für die Möglichkeit, diese heterogenen Stickstoffverbindungen zu assimilieren, scheint die Fähigkeit der Mikroorganismen zu sein, aus den verschiedenen organischen Stickstoffkomplexen den Stickstoff in Form von Ammoniak herauszulösen, das dann zusammen mit anderen Kohlenstoffsubstanzen des Nährmediums zum eigentlichen Grundstein der Eiweißsynthese wird. Besonders beweisend für diese Anschauung über die Plasmabildung ist wohl der glatte Übergang vieler Amine und Aminosäuren in die entsprechenden stickstofffreien Hydroxylverbindungen, Alkohole und Oxysäuren, während des Assimilationsprozesses mancher Hefen- und Schimmelpilze[1]).

Da selbst tertiäre Amine und trimethylierte Aminosäuren, wie Betain, den gleichen biochemischen Reaktionen unter Bildung von Alkoholen und Oxysäuren unterliegen, so schien

[1]) F. Ehrlich, diese Zeitschr. 75, 417, 1916. Vgl. dort die einschlägige Literatur.

die Fragestellung interessant, ob auch ringförmig konstituierte, heterocyklische Stickstoffverbindungen und namentlich auch Alkaloide als Stickstoffnahrung für Mikroorganismen verwertbar sind.

Gelegentliche Beobachtungen hierüber liegen in der Literatur bereits vor. Wenn auch im allgemeinen die Alkaloide gegen Enzyme als sehr widerstandsfähig gelten und als Nährstoffe für Pilze bisher scheinbar nicht wesentlich in Betracht kamen, so deutet doch die Abnahme des Alkaloidgehalts mancher Drogen (Mutterkorn, Cocablätter, Opium) bei längerem Lagern vielfach auf eine Zerstörung der Alkaloide durch enzymatische Vorgänge hin[1]). Auch ist es ja den Apothekern und Ärzten aus der Laboratoriumspraxis schon seit langer Zeit bekannt, daß ähnlich wie auf Lösungen von Ammoniumsulfat und Ammoniumoxalat auch auf verdünnten Lösungen verschiedener an sich recht giftiger Alkaloide, z. B. Chinin und Cocain, nach längerem Stehen sich bisweilen eine Pilzvegetation feststellen läßt[2]). Czapek und Lafar berichten noch über mehrere Fälle des Wachstums von Mikroorganismen auf solchen Stickstoffverbindungen. So hat Lutz auf einzelnen Alkaloiden und auch auf Pyridin und Piperidin Vegetationen von Aspergillus niger erzielen können, allerdings nur bei gleichzeitiger Anwesenheit von Ammonsalzen. Behrens gibt an, daß in den Tabakblättern durch gewisse Bakterien und Pilze, wie Botrytis cinerea, Nikotin-Stickstoff zum Verschwinden gebracht wird. Nach Demoussy sollen Bodenbakterien aus Pyridin und Chinolin Ammoniak abspalten. Demgegenüber steht wieder die Behauptung Löws, daß Pyridin und ähnliche Verbindungen weder giftig noch ernährend wirken.

Bei der Mehrzahl der hier angeführten Fälle ist aber nicht klar ersichtlich, ob die betreffenden Mikroorganismen wirklich ihren Stickstoffbedarf direkt aus den Alkaloiden und ähnlichen Verbindungen gedeckt haben oder ob nicht vielmehr stickstoffhaltige Verunreinigungen der benutzten Pflanzenextrakte oder die sonst noch zugefügten Stickstoffkörper das beobachtete

---

[1]) Winterstein und Trier, Die Alkaloide, Berlin 1910, 310. — v. Friedrichs, Zeitschr. f. physiol. Chem. 93, 276, 1914.

[2]) Czapek, Biochemie der Pflanzen, Jena 1905, 2, 106. — Lafar, Handbuch der technischen Mykologie, 2. Aufl., 1, 406.

Wachstum der Pilze veranlaßt haben. Eines der wenigen Beispiele, aus dem mit Sicherheit die ausschließliche Stickstoffernährung eines Pilzes durch ein Alkaloidderivat zu folgern ist, bildet die von Czapek[1]) beschriebene Vegetation von Aspergillus niger auf nicotinsaurem Natrium, die von einer Sprengung des Stickstoffringes begleitet war.

Um weiteres Material zu der in mancher Hinsicht recht interessanten Frage nach der Eignung von Alkaloiden als Stickstoffquelle für Mikroorganismen beizubringen, habe ich mit Unterstützung von Dr. Fritz Lange[2]) eine Reihe von Vegetationsversuchen mit verschiedenen Hefe- und Schimmelpilzrassen angestellt. Wenn auch diese Untersuchungen nur orientierenden Charakter haben und ein abschließendes Urteil über die vorliegende Frage noch nicht gestatten, so scheinen mir die erhaltenen Resultate immerhin einer vorläufigen Mitteilung wert.

Bei Anstellung der Versuche wurde besonders darauf geachtet, verschiedene heterocyklische Stickstoffverbindungen in möglichst reiner Form den Pilzen als alleinige Stickstoffquelle darzubieten, um genau feststellen zu können, ob und in welchem Maße die einzelnen Organismen imstande sind, den Stickstoffbedarf für ihren Eiweißaufbau aus den vorgelegten Stickstoffsubstanzen zu decken. Als Stickstoffquellen kamen in Form reinster Präparate von Kahlbaum und Merck zur Anwendung: Pyridin und Piperidin, ferner Coniin, Nicotin, Cinchoninsäure, Chinin, Brucin, Cocain und Morphin.

Die anorganische Nährflüssigkeit wurde durch Auflösen von 0,03 g Monokaliumphosphat, 0,01 g Magnesiumsulfat, 0,01 g Chlornatrium und Spuren von Eisensulfat in je 100 ccm reinem destilliertem Wasser bereitet.

Als Kohlenstoffnahrung diente ein Zusatz von etwa 2% Invertzucker oder Äthylalkohol. Der sehr reine, etwa 20% Wasser enthaltende sirupförmige Invertzucker war mit Hilfe von minimalen Mengen Salzsäure und wenig Wasser aus bester Handelsraffinade hergestellt, die zuvor noch durch mehrmaliges Umkrystallisieren gereinigt war. Der Äthylalkohol wurde bei

---

[1]) a. a. O.

[2]) Inaugural-Dissertation, Breslau 1914.

den betreffenden Versuchen immer erst später in die fertig gekochten Lösungen mittels einer sterilen Pipette eingebracht.

Die so vorbereiteten Nährflüssigkeiten wurden in wechselnden Mengen von 100 ccm bis zu 1 l in einzelne geräumige Kolben aus Jenenser Glas gefüllt, höchstens bis zur Hälfte ihres Volumens, und dann mit den zu untersuchenden Stickstoffverbindungen in einer Konzentration von 0,2 % versetzt. Die vollständige Lösung der Stickstoffsubstanzen fand in jedem Falle unter schwacher Erwärmung durch tropfenweisen Zusatz von verdünnter Phosphorsäure oder Essigsäure statt, wobei darauf geachtet wurde, daß die fertige Versuchslösung gegen Lackmus neutral oder nur schwach sauer reagierte. Schließlich wurden die Kolben einzeln mit einem Wattebausch verschlossen und unter Einhaltung möglichst gleicher Bedingungen ihr Inhalt durch $^1/_4$ stündiges Aufkochen an 3 aufeinanderfolgenden Tagen vollkommen sterilisiert.

Die Beimpfung der fertig sterilisierten Nährstofflösungen geschah jedesmal mit Hilfe derselben Platinöse durch Abstich von üppig gewachsenen frischen Reinkulturen des Instituts, wobei in allen Fällen die Übertragung von Nährsubstrat aus den Kulturröhrchen sorglich vermieden wurde.

Von Mikroorganismen kamen zur Einwirkung die Kahmheferassen Willia anomala Hansen, Pichia farinosa und eine unbestimmte Weinkahmhefe, ferner die Schimmelpilze Oidium lactis, Aspergillus niger und Penicillium glaucum. Außerdem wurden einige Nährlösungen nach 1 tägiger offener Aufbewahrung der Kolben der Selbstinfektion durch Luftkeime überlassen. Die beimpften Kolben wurden in einem gleichmäßig warmen Raume bei Zimmertemperatur (15 bis 20°) aufgestellt und von Zeit zu Zeit äußerlich auf fortschreitendes Wachstum hin untersucht. Durch parallel angesetzte Kontrollversuche, bei denen die Nährlösungen ohne Zusatz der untersuchten Stickstoffverbindungen beimpft waren, wurde einwandfrei sichergestellt, daß die beobachteten Vegetationen nicht etwa auf stickstoffhaltige Verunreinigungen der angewandten Chemikalien oder der Laboratoriumsluft zurückzuführen waren. Außerdem wurden sämtliche Pilzernten vor Beendigung der einzelnen Versuche mikroskopisch auf Reinheit untersucht.

Je nach dem Grade des Wachstums wurden die Versuche nach 3 Monaten, in den meisten Fällen aber erst nach 12 Monaten abgebrochen, um eine möglichst große Ausnutzung der Nährstoffe zu erreichen. Bei den Versuchen, wo ein stärkeres Wachstum festzustellen war, erfolgte eine Verarbeitung des Kolbeninhalts auf die gewachsene Trockensubstanz des Organismus. Zu diesem Zwecke wurde die betreffende Versuchslösung filtriert, das auf dem Filter verbleibende Pilzmycel mit angesäuertem Wasser vollkommen rein ausgewaschen, der Rückstand nach dem Trocknen bei 105° gewogen und in einzelnen Fällen darin noch der Stickstoffgehalt bestimmt, um Anhaltspunkte für die Assimilationsgröße zu gewinnen.

Die folgenden Tabellen geben eine Übersicht über die Hauptresultate der Versuche. Unter Weglassung unwesentlicher Momente sind darin die wichtigsten Daten über Art und Menge der Kohlenstoff- und Stickstoffnahrung, über die angewandten Mikroorganismen, die Dauer der einzelnen Versuche, die verschiedenen Grade der Intensität des Wachstums, über die Trockensubstanz- und Stickstofferernte der Pilze und sonstige besondere Beobachtungen verzeichnet.

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, konnte bei sämtlichen als Stickstoffnahrung benutzten heterocyklischen Stickstoffverbindungen, sowohl bei den einfacheren, wie Pyridin und Piperidin, als auch bei den komplizierter zusammengesetzten Alkaloiden mit einzelnen Hefen und Schimmelpilzen ein deutliches Wachstum erzielt werden, das jedoch im allgemeinen

Versuch Nr.	Stickstoff-nahrung	Kohlenstoff-nahrung	Mikro-organismus	Dauer des Versuches Monate	Intensität des Wachstums	Entstandene Pilztrocken-substanz g	Stickstoff in der Pilz-trocken-substanz g	
1	Pyridin 0,6 g	Alkohol 5 ccm	Willia anomala Hansen	10	+			Estergeruch
2	Pyridin 0,5 g	Alkohol 4 ccm	Oidium lactis	10	+			
3	Pyridin 0,4 g	Invertzucker 4 g	Pichia farinosa	10	+			
4	Pyridin 0,4 g	Invertzucker 4 g	Penicillium glaucum	8	++	0,13	0,0020	

Versuch Nr.	Stickstoff-nahrung	Kohlenstoff-nahrung	Mikro-organismus	Dauer des Versuches Monate	Intensität des Wachstums	Entstandene Pilztrocken-substanz g	Stickstoff in der Pilz-trocken-substanz g	
5	Piperidin-bitartrat 2 g	Invertzucker 10 g	Willia anomala Hansen	10	++			
6	Piperidin 0,6 g	Invertzucker 20 g	do.	8	++	0,16	0,0045	Estergeruch
7	Piperidin-bitartrat 0,5 g	Alkohol 4 ccm	Oidium lactis	10	+			
8	Piperidin-bitartrat 0,4 g	Invertzucker 4 g	Pichia farinosa	10	++			
9	Piperidin-bitartrat 0,4 g	Invertzucker 4 g	Penicillium glaucum	10	+++	0,62	0,0182	
10	Piperidin-bitartrat 2 g	Invertzucker 20 g	do.	4	+++	4,20		Spuren NH_3
11	do.	do.	do.	$2^1/_2$	+++	3,03	0,097	
12	Piperidin 1,5 g	Invertzucker 20 g	do.	3	+++	5,18	0,1968	Spuren NH_3
13	do.	do.	do.	4	+++	4,81		
14	Coniin 0,6 g	Alkohol 5 ccm	Willia anomala Hansen	12	+			Schwacher Estergeruch
15	Coniin 0,5 g	Alkohol 4 ccm	Oidium lactis	12	+			
16	Coniin 0,4 g	Invertzucker 4 g	Pichia farinosa	12	+			
17	Coniin 0,4 g	Invertzucker 4 g	Penicillium glaucum	12	++	0,09	0,0017	
18	Coniin 0,2 g	Invertzucker 2 g	Selbstinfektion	12	+++	0,43	0,0101	Schwarzes Mycel, Bakterien
19	Nicotin 1,5 g	Invertzucker 20 g	Willia anomala Hansen	11	+	0,09	0,0029	Deutlicher Estergeruch
20	Nicotin 1,5 g	Invertzucker 20 g	Wein-kahmhefe	11	+	0,05		
21	Nicotin 0,4 g	Invertzucker 4 g	Pichia farinosa	10	+			
22	Nicotin 1,5 g	Invertzucker 20 g	Aspergillus niger	11	++	0,40	0,0049	Angenehmer aromat. Geruch
23	Nicotin 1,5 g	Invertzucker 20 g	Penicillium glaucum	11	++	0,43	0,0053	do.

Versuch Nr.	Stickstoff-nahrung	Kohlenstoff-nahrung	Mikro-organismus	Dauer des Versuches Monate	Intensität des Wachstums	Entstandene Pilztrocken-substanz g	Stickstoff in der Pilz-trocken-substanz g	
24	Cinchonin-säure 0,5 g	Alkohol 3 ccm	Willia anomala Hansen	10	++	0,13	0,0031	Deutlicher Estergeruch
25	Cinchonin-säure 0,4 g	Invertzucker 4 g	Pichia farinosa	10	+			
26	Cinchonin-säure 0,5 g	Alkohol 3 ccm	Oidium lactis	10	+			
27	Cinchonin-säure 0,4 g	Invertzucker 4 g	Penicillium glaucum	10	++			
28	Chinin 0,5 g	Invertzucker 10 g	Willia anomala Hansen	11	+			Estergeruch
29	Chinin 0,4 g	Invertzucker 4 g	Pichia farinosa	12	+			
30	Chinin 0,4 g	Invertzucker 4 g	Penicillium glaucum	12	++	0,11	0,0028	
31	Chinin 0,2 g	Invertzucker 2 g	Selbstinfektion	14	++			
32	Brucin 0,2 g	Alkohol 3 ccm	Willia anomala Hansen	13	+			Estergeruch
33	Brucin 0,2 g	Alkohol 3 ccm	Oidium lactis	15	+			
34	Cocain 1 g	Invertzucker 5 g	Willia anomala Hansen	15	+	0,04	0,0014	Schwacher Estergeruch
35	Cocain 0,4 g	Invertzucker 4 g	Pichia farinosa	13	+			
36	Cocain 0,4 g	Invertzucker 4 g	Penicillium glaucum	13	++	0,10	0,0022	
37	Morphin 0,5 g	Invertzucker 5 g	Willia anomala Hansen	9	+	0,02	0,0022	Starker Estergeruch
38	Morphin 0,3 g	Invertzucker 3 g	Penicillium glaucum	11	+			

nicht so üppig war als in den früher[1]) beschriebenen Versuchen mit Aminen und Betain. Eigentümlich war, daß sich

[1]) F. Ehrlich, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **45**, 1006, 1912; **46**, 2746, 1913; diese Zeitschr. **75**, 417, 1916.

in einzelnen Fällen nach anfänglich kräftigem Wachstum eine Hemmung der Vegetation beobachten ließ, die oft schon nach wenigen Tagen eintrat und sich am auffallendsten bei einer mit Willia anomala beimpften Morphinlösung zeigte. In diesem Versuch (Nr. 37) hatte sich bereits am zweiten Tage nach der Beimpfung eine verhältnismäßig dicke Kahmhaut gebildet, die in den folgenden Tagen noch stärker wurde, so daß es den Anschein hatte, als befände sich die Hefe in voller Gärtätigkeit. Nach etwa 8 Tagen trat jedoch ganz plötzlich eine merkliche Hemmung des Wachstums ein, so daß äußerlich die Vegetation der Hefe zum Stillstand gekommen zu sein schien. Immerhin konnte durch Plattenkulturen gezeigt werden, daß die Nährlösung selbst nach 9monatigem Stehen des Versuches noch reichliche Mengen lebenskräftiger Zellen enthielt. Der Grund für diese zum Teil auch bei den Schimmelpilzen beobachteten Hemmungserscheinungen liegt höchstwahrscheinlich in der Bildung für die betreffenden Mikroorganismen giftiger Abbauprodukte aus den ringförmigen Stickstoffverbindungen, die bei einer gewissen Konzentration den Pilz in seinem Wachstum schädigen und somit einer Neubildung von Zellen entgegenwirken.

Was die Eignung der angewandten Stickstoffverbindungen für verschiedene Organismen anbetrifft, so zeigte sich, daß die Schimmelpilze darauf im allgemeinen besser als die Hefen wuchsen, wie aus dem Vergleich der in den einzelnen Fällen bestimmten Trockengewichte des gewachsenen Pilzes hervorgeht.

Wenn auch das in diesen Versuchen mit ringförmigen Stickstoffverbindungen erzielte Wachstum oft nur spärlich war, so kann man daraus doch so viel mit Sicherheit entnehmen, daß unter allen Umständen ein biochemischer Abbau der Stickstoffsubstanzen durch die betreffenden Mikroorganismen erfolgt sein muß, da diese zur Bildung neuer Zellen, d. h. also zur Bildung von Eiweiß einzig und allein auf den Stickstoff der betreffenden heterocyklischen Verbindungen angewiesen waren. Solche chemische Veränderungen der Nährlösungen kamen zum Teil rein äußerlich schon dadurch zum Ausdruck, daß z. B. bei allen Versuchen, auf denen Willia anomala gewachsen war, im Filtrat ein deutlicher Geruch nach Essigester wahrgenommen werden konnte, der nach früheren Erfahrungen

nur dann aufzutreten pflegt, wenn sich diese Hefe in lebhafter Zellenvermehrung befunden hat. Ebenso auffallend war ein angenehm aromatischer Geruch, der sich bei der Aufarbeitung der mit Aspergillus niger und Penicillium glaucum beeimpften Nicotinlösungen, besonders beim Eindampfen der Filtrate, zeigte, und der vermutlich von einem aus dem Nicotin entstandenen Stoffwechselprodukt herrührt.

Wie aus der Übersicht der Versuchsresultate hervorgeht, wurden die größten Pilzernten mit Penicillium glaucum auf Piperidinlösungen erhalten, die auch von Willia anomala kräftig angegriffen werden. Die Ausnutzung des Piperidins durch diese Mikroorganismen war in allen Fällen sehr günstig, gleichgültig ob die Base in Salzform als Bitartrat, Phosphat oder Acetat dargeboten wurde. In einem Falle (Versuch Nr. 12) war sogar in einer Lösung von 1,5 g Piperidin 5,18 g trockenes Mycel mit 0,1968 g Stickstoff zu sammeln. Es ist also in diesem Versuch nahezu $^4/_5$ des vorgelegten Piperidins von dem Pilz verwertet worden. Damit ist bewiesen, daß Schimmelpilze den Piperidinkern zu sprengen und die Spaltstücke zur Assimilation auszunutzen vermögen. Besonders wichtig erscheint, daß unter diesen Spaltprodukten in zwei Versuchen (Nr. 10 und 12) mittels des Neßlerschen Reagens deutlich, wenn auch nur in Spuren, Ammoniak nachzuweisen war.

Auch auf substituierte Piperidine scheinen manche Pilze in ähnlicher Weise einzuwirken, wie aus den Versuchen mit Coniin zu folgern ist. Da viele Alkaloide einen Piperidinkern enthalten, so dürften derartige Versuche in biochemischer Hinsicht manches Interesse bieten. Bemerkenswert ist auch, daß Nicotin, das einen leicht aufspaltbaren Pyrrolidin-Ring besitzt, eine günstigere Stickstoffnahrung für die Pilze zu bilden scheint als Alkaloide mit fester gefügter Stickstoffgruppe wie Brucin, Morphin usw.

Die Beobachtungen über das freiwillige Wachstum von Pilzen und Bakterien auf Alkaloidlösungen, die der Luft ausgesetzt waren, scheinen im übrigen darauf hinzudeuten, daß durch vereinte Wirkung mehrerer Mikroorganismen ein noch stärkerer Abbau der Alkaloide zu erzielen ist.

Wenn auch die vorstehenden Versuche im wesentlichen nur orientierender Art sind und vorläufig keinen Aufschluß

über die chemischen Abbauprodukte bei der Einwirkung der Mikroorganismen auf Alkaloide und ähnliche Verbindungen zu geben vermögen, so erscheint doch immerhin an den Resultaten bemerkenswert, daß überhaupt eine Vegetation von Organismen auf so giftigen Substanzen zu beobachten war, und daß diese in einzelnen Fällen zu relativ recht beträchtlichen Ernten führte.

Aufgabe künftiger Untersuchungen wird es bleiben müssen, so günstige Vegetationsbedingungen für die einzelnen Mikroorganismen ausfindig zu machen, daß sich eine erheblichere Anreicherung und Isolierung der biochemischen Abbauprodukte aus Alkaloiden und ähnlichen Verbindungen erzielen läßt. Es erscheint nicht ausgeschlossen, daß durch zweckentsprechende Abänderung der Zusammensetzung der Nährlösungen sich größere Pilzernten und dementsprechend weitgehendere Umsetzungen der vorgelegten Alkaloidsubstanzen ergeben werden.

Wie ich schon früher ausgeführt habe, sind solche Versuche namentlich in Hinsicht auf das noch wenig bekannte Schicksal der Alkaloide in den grünen Pflanzen besonders interessant. Bei den nahen biochemischen Beziehungen ist es wohl denkbar, daß die höher organisierten Pflanzen ganz ähnlich wie die Mikroorganismen dauernd oder zeitweise Enzyme mobil machen können, mit Hilfe deren sie die von ihnen produzierten Alkaloide abzubauen und für ihren Stoffwechselprozeß weiter auszunutzen vermögen.

Neue Untersuchungen über akute gelbe Leberatrophie.

I.

Über den Reststickstoff des Blutes und seine Komponenten. Weitere Beiträge zur vergleichenden Pathologie des Aminosäurespiegels im Blute.

Von

Joh. Feigl und H. Luce[1]).

(Aus dem Chem. Laboratorium und der dritten Inneren Abteilung des Allgem. Krankenhauses Hamburg-Barmbeck.)

(Eingegangen am 30. November 1916.)

Mit 1 Figur im Text.

Über die bei der akuten gelben Leberatrophie beschriebenen, schweren pathologischen Erscheinungen liegen Untersuchungen vor, die periodisch seit längeren Jahren gefördert worden sind. In den jüngsten Zusammenfassungen wird dieses Gebiet nach dem gegenwärtigen Stande erschöpfend behandelt[2]). Man sieht, daß trotz des nicht unbeträchtlichen und teilweise recht eingehend bearbeiteten Materiales keineswegs alle Beobachtungen unter verschiedenen Gesichtspunkten eindeutig bewertet werden können. Gerade die Chemie des durch die akute gelbe Leberatrophie geschaffenen pathologischen Stoffumsatzes ist bisher häufig beforscht worden, ohne daß durch allgemeiner übereinstimmende Befunde einheitliche Vorstellungen für die Spezial-

---

[1]) Die Laboratoriumsarbeiten zu dieser Untersuchung wurden von dem einen von uns während eines längeren militärischen Urlaubs ausgeführt, während die Zusammenstellung der Ergebnisse, die im Auszuge zu einem Vortrage vor dem Ärztlichen Verein zu Hamburg, Sitzung vom 2. Mai 1916, verwertet wurden, mit Rücksicht auf andere Arbeiten bisher aufgeschoben werden mußte.

[2]) F. Umber in Mohr-Staehelin, Handb. d. Inn. Med. 3, Leber und Gallmenge 1914, Berlin.

fragen entworfen werden können, wennschon pathologisch-anatomisch und (in späteren Stadien) auch klinisch das Bild dieser schweren Organerkrankung ein ungemein typisches ist.

Im Vordergrunde steht hier vorherrschend die Frage des Umsatzes im Bestande des Gesamtstickstoffhaushalts, wobei die Abweichungen, wenigstens soweit grundsätzliche Beobachtungen — diese zunächst nur im qualitativen Sinne verstanden — in Betracht kommen, seit den Arbeiten der ersten Untersucher bekannt sind. Einmal handelt es sich um die Frage, ob unter dem Eindrucke der akuten gelben Leberatrophie die Rolle der Leber bei dem Abbau bzw. bei der Verwertung der Eiweißspaltprodukte, die dem Organ auf dem Wege der Pfortader normalerweise zuströmen, eine Störung erfährt. Wenn solches zugegeben wird, so sind ferner Grad und Umfang dieser Abwandlung zu bewerten, nachdem Beobachtungen darüber beigebracht sind, in welcher Richtung der Abbau der Aminosäuren — um diese handelt es sich in erster Linie — von der Norm abweichende Formen zeigt. Der Gesamteiweißumsatz bei der akuten gelben Leberatrophie ist zweifellos enorm gesteigert, wie es der Fall zu sein pflegt, wenn toxische Vorgänge im Organismus in Umsatz und Bestand der Organsubstanz eingreifen.

Einleitung.

Nun sind zwar im größeren Umfange und an manchen Fällen, die in einigen Beziehungen erheblich abweichende Nebenerscheinungen zu bieten vermögen, Urinuntersuchungen angestellt worden. Ihre Ergebnisse lassen sich daher auch nicht in allen Abschnitten zur Deckung bringen und bedürfen dringend weiterer Erläuterung. Immerhin ist viel deskriptives Material gesammelt worden.

Im Gegensatze dazu ist über die Chemie des Blutes bis heute, abgesehen von zwei Arbeiten, die zudem zeitlich weit auseinanderliegen, sehr wenig bekannt worden. In der ersten handelt es sich um einen experimentell nicht näher belegten, rein qualitativen Befund von höchstens orientierender Bedeutung. Auf den Befunden der zweiten — klassischen — Untersuchung zu der vorliegenden Frage beruhen unsere heutigen Vorstellungen. Diese letztere entspricht indes nur einem bestimmten

Zeitpunkte innerhalb eines Falles sui generis und beschäftigt sich mit einem begrenzten, an sich und in seiner Übertragung aber höchst wichtigen Ausschnitt aus der Frage des Aminosäurestoffwechsels. Wenn hiermit Wichtiges geschaffen, das Wesentliche der Erscheinungen des Aminosäurestoffwechsels geklärt wurde, so fehlt es doch an der Bearbeitung weiterer wichtiger Teile des einschlägigen Problems. Daß umfangreichere, wie eingehendere Fragen bisher überhaupt nicht aufgeworfen wurden, ist im wesentlichen wohl eine Folge experimenteller Voraussetzungen. Da diese inzwischen, vornehmlich aber in jüngster Zeit mit der fortschreitenden Ausgestaltung und Verfeinerung der biologisch-chemischen Methodik zum achtbaren Teile erfüllt sind, konnten neue progammatische Gesichtspunkte aufgestellt und dementsprechend weitere Aufgaben zum ersten Male in Angriff genommen und vorläufig gelöst werden.

Über das Vorkommen von Aminosäuren unter den Stoffwechselendprodukten, insbesondere bei Leberschädigung.

Anknüpfend an die charakteristischen Urinbefunde, die auf die ältesten Publikationen über akute gelbe Leberatrophie von Frerichs[1]) zurückgehen und die in der Isolierung von bestimmten Aminosäuren — Leucin und Tyrosin — gipfeln, sind weitere Untersuchungen angestellt worden. Immer wieder wurde das Auftreten dieser Spaltprodukte beobachtet, deren Nachweis und Isolierbarkeit auf Grund der spezifischen physikalischen und chemischen Eigenschaften günstige Vorbedingungen fand. Da nun der Kreis von Methoden zur Isolierung an sich schwer auffindbarer Eiweißspaltprodukte (größerer Löslichkeit) erweitert und diese zur Isolierung bestimmter Individuen in der Biochemie geeignet befunden wurden, gelang zunächst mit der Naphthalinsulfochloridmethode von Abderhalden und Bergell bei experimenteller Phosphorvergiftung der Nachweis des Glykokolls[2]). Als Embden mit Reese und Marx[3]) sein Vorkommen auch in normalen Urinen

---

[1]) Frerichs, Klinik der Leberkrankheiten, **1**, 202, 1888.

[2]) E. Abderhalden und P. Bergell, Zeitschr. f. physiol. Chem. **39**, 464, 1903.

[3]) G. Embden und H. Reese, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **7**, 411, 1905. — G. Embden und H. Marx, ebd., **11**, 308, 1908.

gezeigt hatte, konnten später Rießer[1]) und v. Reuß[2]) dartun, daß die Substanz, primär aus sterilem Harn isoliert, keiner sekundären Einwirkung entstammte[3]). Nunmehr mußten Feststellungen folgen darüber, ob selbst die höchsten Werte, die bei pathologischen Zuständen ermittelt wurden, in Beziehung zu den normalerweise vorkommenden standen. Befunde, daß auch sie zumeist noch in den Bereich der physiologischen Grenzen fallen, verdanken wir ebenfalls Embden und Reese sowie Lipstein[4]).

Neben dem experimentellen Gedankengange der Isolierung bestimmter Individuen, der für die Pathochemie und Diagnose besonders der akuten gelben Leberatrophie noch heute ihre volle Bedeutung behält[5]) (wie wir sehen werden), kam später eine andere, auf zwei Wegen praktisch betätigte Voraussetzung zur Geltung und bei Prüfung ähnlicher Fragen in Anwendung. Sie beruht auf der summarischen Zusammenfassung der Gesamtmenge an ausgeschiedenen Aminosäuren durch eine isolierte Fraktion des Stickstoffs. Der ältere Weg führt nach Arbeiten von Pfaundler[6]) sowie Krüger und Schmid[7]) über eine differential durchgeführte Fällungsmethodik mit Phosphorwolframsäure, beruht auf der Bestimmung dieses „schwer abspaltbaren" Stickstoffs, der im Filtrat erscheint und rechnet Hippursäure, sowie die Oxyproteinsäuren (letztere z. T.) mit ein, gleichzeitig in der Fällung etwa enthaltenes Histidin und Arginin ausschließend. Wir nennen dies Verfahren, weil v. Jaksch dem unseren nahestehenden Zustände danach untersucht und mit vermehrter Aminosäureausscheidung einhergehend befunden hat[8]). Der zweite Weg wird heute als Formoltitration

---

[1]) O. Rießer, zit. nach Neubauer-Huppert, Analyse des Harnes, 1910, Band, Aminosäure, bearb. v. Ellinger, 588.

[2]) H. v. Reuß, Wiener klin. Wochenschr., **22**, 158, 1909.

[3]) Eine solche war von Seo, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol., 58, 440, 1908, in einer spezifischen bakteriellen Zersetzung von Hippursäure aufgeklärt werden.

[4]) A. Lipstein, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol., 7, 527, 1905.

[5]) F. Umber, l. c. **35**.

[6]) H. Pfaundler, Zeitschr. f. physiol. Chem., **75**, 30, 1900.

[7]) H. Krüger und J. Schmid, Zeitschr. f. physiol. Chem., **31**, 556, 1901.

[8]) R. v. Jaksch, Zeitschr. f. klin. Med., **47**, 1, 1903.

bezeichnet[1]). Das Verfahren summiert methodisch den Stickstoff der Monoaminosäuren und Monoaminodicarbonsäuren, für Tyrosin und Prolin allerdings nach Soerensen Fehler mit einschließend. Zahlreiche Untersucher haben mit dieser Methode gearbeitet, namentlich Henriques[2]) und Joshida[3]). Die obere Grenze des relativen Gesamtaminostickstoffes im Harn wird in der Norm zu 2,5% des gesamten Harnstickstoffs beziffert und angenommen, daß sie höchstens 80% des wirklich vorhandenen darstellt[4]), wobei eine die Individualität der Säuren bedenkende Einschränkung (Tyrosin!) zu machen ist. Diesem Befunde gegenüber charakterisieren sich alle Zahlen, die bei pathologischen Anlässen aufgestellt worden sind, nicht mehr als grundsätzliche, sondern nur als graduelle Unterschiede. Nun haben mehrere Untersucher, insbesondere Gläßner[5]), Falk und Saxl[6]), Frey und Gigon[7]) gefunden, daß bei Leberschädigung der Aminostickstoff des Harnes gesteigert ist, was auf der experimentell erhärteten Annahme beruht, daß die Aminosäuren der Nahrung nicht im gewohnten Umfange ausgenutzt werden. Ganz neuerdings hat Bang in großen Untersuchungsreihen auch Fälle, die in jedem Sinne bei Erörterung dieser Frage von Interesse sind, eingehend diskutiert[8]). Zwar beruhen auch diese auf dem Studium der experimentellen Phosphorintoxikation, die immer wieder zum Vergleich herangezogen wird. Wenn diese auch im ganzen der akuten gelben Leberatrophie so nahe steht, daß Umber sie geradezu als eine experimentelle Form derselben bezeichnet[9]), so dürfen wir doch

---

[1]) Jessen-Hausen, Die Formoltitration in Abderhalden, Handb. der biochem. Arbeitsmethoden, 6, 262/272, 1912. — K. Brahm u. R. Schittenhelm in Brugsch-Schittenhelm, Technik der spez. klin. Unters.-Methoden, II. Teil, 676, 1914, siehe auch die neueste Ausführungsform nach J. Bang, diese Zeitschr. 72, 101, 1916.

[2]) v. Henriques, Zeitschr. f. physiol. Chem., 60, 1, 1909.

[3]) T. Joshida, diese Zeitschr., 23, 239, 1909.

[4]) l. c. Neubauer-Huppert, 586. Die Abweichung muß sich sonach bei reichlicher Tyrosinmenge vergrößern. Die Zahlen, nach den älteren Methoden bestimmt, liegen höher.

[5]) K. Gläßner, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol., 4, 336, 1908.

[6]) Falk u. Saxl, Zeitschr. f. klin. Med., 73, 383, 1911.

[7]) W. Frey u. Gigon, Zeitschr. f. klin. Med., 73, 325, 1911.

[8]) I. Bang, diese Zeitschr., 72, 166, 1916; 74, 278, 1916.

[9]) F. Umber, l. c.

nicht vergessen, daß auch Unterschiede, gerade im sichtbaren Aminosäureumsatz wiederholt betont worden sind. Nachdem wir einmal wissen, daß quantitativ der in der Norm bereits vorhandene Aminostickstoff des Urins ein anderer wird, wenn — ganz allgemein — Leberstörungen vorliegen und ferner umfangreiche Untersuchungsreihen von Bang die Toleranz bzw. Assimilationsgrenzen (Desamidierung in erster, Harnstoffsynthese in zweiter Linie) der verschiedenen Aminosäuren am gesunden Organismus kennen lehren, dürfen wir annehmen, daß bei Leberschädigungen der Aminostickstoff des Urins auch einmal qualitativ ein anderer sein kann als in der Norm[1]). Aus den letztgenannten Arbeiten sehen wir, das Glykokoll und Alanin an sich weniger umfangreich abgebaut werden als Leucin. Gläßner hat Untersuchungen an Patienten mit Lebercirrhose, Leberlues und Phosphorleber gemacht, um den Abbauvorgang an zugeführten Aminosäuren zu studieren und beobachtete, daß 20 bis 90% wieder im Harn erschienen[2]). Jastrowitz bestätigte gleiches mit anderer Methodik[3]). Glykokoll war von Abderhalden und Bergell[4]), Alanin von Wohlgemuth[5]), Leucin und Tyrosin oft von anderen Forschern bei Phosphorleber im Harn nachgewiesen worden. Diese letzteren Aminosäuren sind auch unter weiteren pathologischen Verhältnissen nicht selten aufzufinden[6])[7]).

Nun stellen jedoch die beschriebenen Vorkommnisse nur geringere Grade einer Aminoacidurie dar. Das typische Bild für eine derartige Stoffwechselanomalie ist die Cystinurie, die zwar in der für typisch gehaltenen Form einseitig diese Säure leicht auffindbar im Harn erscheinen ließ, bis eingehendere Forschungen, insbesondere von Neuberg und Loewy zeigten, daß es Fälle gibt, die auch die Fähigkeit zur Verbrennung

---

[1]) I. Bang, diese Zeitschr., **1916**,

[2]) K. Gläßner, l. c.

[3]) H. Jastrowitz, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **59**, 463, 1908.

[4]) E. Abderhalden u. P. Bergell, l. c,

[5]) J. Wohlgemuth, Zeitschr. f. physiol. Chem. **40**, 3721, 1907.

[6]) Neubauer-Huppert, S. 599 u. 605.

[7]) Siehe auch Wohlgemuth über Diaminosäuren, spez. Arginin in Neubauer-Huppert, S. 640.

anderer Aminosäuren teilweise eingebüßt haben[1]). Ihrer Darstellung und Auffassung nach eigenartig war eine Untersuchung von Bergell und Blumenthal, als deren Ergebnis angesehen wird, daß ein prinzipieller Unterschied zwischen akuter gelber Leberatrophie und Phosphorvergiftung zufolge spezieller fermenthydrolytischer Voraussetzungen in der Art der Aminosäureausfuhr liege[2]). Jene bringe durch heterolytischen Abbau die bei der tryptischen Verdauung in vitro schnell und reichlich erscheinenden, schwer löslichen Säuren Leucin und Tyrosin im Harn allein, oder fast allein, die Intoxikation auch die kleiner-molekularen, bes. Glykokoll, zum Vorschein. Die bis dahin bekannten Beobachtungen über speziell abgeartetes Eiweiß bei Neubildungen, sowie über Auftreten oder Freiwerden anders gearteter Fermentwirkungen bilden die theoretische Grundlage dieser Betrachtung.

Über das Vorkommen von Kreatinin, Kreatin und Purin unter den Stoffwechselendprodukten insbesondere bei Leberschädigung.

Neben diesen Fällen mit zunächst rein deskriptiv gegebenem Material zur Frage der Störung im Umsatz der echten Aminosäuren ist alles Weitere über die Ausfuhr von Stickstoffsubstanzen bei Leberatrophie nur in spärlichen Angaben vorhanden.

Vom Kreatin und Kreatininhaushalt ist bekannt, daß ersteres in sehr reichlichen Mengen — 4,0 g am Tage, Hoogenhuyse und Verploegh[3]) — mit dem Harn erscheinen, und daß bei manchen Lebererkrankungen das Kreatinin nach Rubinato[4]) und Mellanby[5]) erheblich zurückgedrängt werden kann. Bei Phosphorvergiftungen wurde von Lefmann zunächst ein An-

---

[1]) A. Loewy u. C. Neuberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. **43**, 338, 1904; auch C. Neuberg in v. Noorden, Handb. d. Pathol. d. Stoffw., **2**, 469, Berlin, 1907.

[2]) P. Bergell u. F. Blumenthal, Charité-Annalen, **30**, 18, 1906.

[3]) C. J. C. van Hoogenhuyse u. H. Verploegh, Zeitschr. f. physiol. Chem. **57**, 161, 1908.

[4]) G. Rubinato, Zentr. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. des Stoffw. **8**, 854, 1907.

[5]) E. Mellanby, Journal of Physiol. **36**, 447, 1908.

stieg der Kreatininausfuhr beobachtet, die dann später zurückging und von erhöhter Kreatinausfuhr begleitet war[1]).

Über die den Purinstoffwechsel betreffenden pathologischen Abwandlungen ist nach der Darstellung von Umber[2]) im Zusammenhange mit unseren heutigen Vorstellungen nicht verwunderlich, daß die endogene Quote der Ausfuhr erhöht sein kann, ohne daß die eigentliche Harnsäure-Bildung, -Zerstörung und -Ausfuhr irgendwelche Änderungen zu zeigen brauchte[3]).

Die Frage nach der Entstehung und Ausfuhr des Harnstoffes steht im engen Zusammenhange mit derjenigen nach dem Erscheinen von Aminosäuren im Harne, sie soll an anderer Stelle abgehandelt werden. Ebendort ist auch auf die Ammoniakbildung einzugehen.

Über Reststickstoff und Aminosäuren im Blute bei Leberatrophie nach dem bisherigen Stande der Kenntnis.

Bei den vorstehend beschriebenen, im Harn manifest werdenden Abartungen hinsichtlich der Umsatzformen des Stickstoffs handelt es sich um Erscheinungen, die wenigstens in einigen Abschnitten schon früher ergiebig studiert wurden. Was das Organ selbst angeht, so hat zunächst Frerichs Leucin und Tyrosin gefunden. Bergell und Blumenthal haben neuerdings Material auch zu dieser Frage gebracht. Naturgemäß müssen nun diese, doch zum großen Teile recht erheblichen Abartungen, vor allem in der Zusammensetzung des Blutes ein mehr oder minder entsprechendes Spiegelbild erzeugen; doch ist über einschlägige Untersuchungen nur sehr wenig bekannt geworden. Nun finden sich in den groß angelegten Arbeiten von Bang die Beziehungen zwischen Eiweiß bzw. Proteinernährung und den Bewegungen im Gehalt an Gesamtreststickstoff, Harnstoff, Aminosäuren des Blutes. Dort sind auch speziell die einzelnen Aminosäuren behandelt, so daß wir eine Basis besitzen.

Zwar ist schon aus den ersten Untersuchungen von Frerichs zu schließen, daß er die Auffindung von Aminosäuren im Blute als Teilaufgabe innerhalb des experimentellen

[1]) G. Lefmann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **57**, 476, 1908.
[2]) F. Umber, l. c.
[3]) R. Weintraud, Wien. klin. Wochenschr. **1896**, 1/2.

Problems der Stoffwechselpathologie bei akuter gelber Leberatrophie ansah. Einer gelegentlichen Angabe zufolge ist ihm der Nachweis von Leucin gelungen. Später blieb diese Frage, weil methodisch schwer angreifbar und klinisch-diagnostisch nicht unmittelbar drängend, unberührt. In ein neues Stadium trat sie dagegen mit einem Schlage durch die klassische Arbeit von Neuberg und Richter, die für den in Rede stehenden speziellen pathologischen Stoffumsatz an sich wie auch weit allgemeiner in ihren Befunden und theoretischen Folgerungen grundlegend wurde und bis heute geblieben ist[1]). Die Autoren untersuchten einen Fall, der sich im Anschluß an frische Lues entwickelte und das gewöhnliche klinische Bild bot. Der Urin zeigte in Übereinstimmung mit früheren Feststellungen von P. F. Richter mit ne. 77% Harnstoffstickstoff im Gesamtstickstoff und ne. 15% Ammoniakstickstoff somit relative Werte, die auf erhebliche Störung der Harnstoffbildung trotz hochgradigen Organschwundes nicht schließen ließen. Die hauptsächlichen Ergebnisse der Arbeit liegen in einer eingehenden Blutuntersuchung aus dem letzten Stadium des Falles, wobei ihnen insgesamt 350 ccm Aderlaßblut zu Gebote stand. Ihre Befunde sind mit genauer methodischer Durcharbeitung und eingehender Beweisführung erzielt worden. Sie gipfeln in der faktischen Isolierung und analytischen Sicherstellung von insgesamt 2,13 g Aminosäuren (0,787 g Tyrosin, 1,102 g Leucin, 0,240 g Lysin), aus 345 ccm Blut, woraus die schätzungsweise Annahme von 30 g frei im Blut kreisenden Aminosäuren dieser Individualität berechtigt ist.

Zur Illustration und Erhärtung dieser Befunde sei zitiert, daß bei sorgfältiger Enteiweißung eine an sich denkbare Vermehrung der isolierten Produkte gegenüber dem faktisch vorhandenen Bestande als ausgeschlossen erachtet wurde, daß Krystallgestalt, Schmelzpunkt, Löslichkeit, Drehung (letztere im Dienste noch weiter ausholender Betrachtungen) eingehend beobachtet wurden. Wenn schon eine Enteiweißung größerer Serummengen zu präparativen Zwecken im gleichen oder ähnlichen Gange auch heute sicher noch mit Vorteil nicht grund-

---

[1]) C. Neuberg und P. Fr. Richter, Über das Vorkommen von freien Aminosäuren (Leucin, Tyrosin, Lysin) im Blute bei akuter gelber Leber atrophie. Deutsche med. Wochenschr. **40**, 14, 499, 1904.

sätzlich anders ausgeführt zu werden braucht, so sind doch, was rein analytische Arbeit angeht, hinsichtlich dieses Weges inzwischen weitere Erfahrungen gemacht worden[1]). Zur Frage der Enteiweißung des Blutes und Serums mit dem Zwecke der Isolierung und näheren Bestimmung des Filtratstickstoffs (Nichteiweißstickstoffs, Reststickstoffs) ist so viel Material beigebracht worden, das nach den neueren Erfahrungen über die einschlägige Methodik für die Hitzekoagulation als ungenau zu bewerten ist. Von Bang stammt die Fassung, daß unter den Makromethoden namentlich die sich der Hitzekoagulation bedienenden an dem Fehler der Umwandlung eines Teils des koagulierbaren Eiweißes in lösliche Stickstoffträger gescheitert seien[2]). Hält man andererseits inzwischen gemachte Beobachtungen, zu denen speziell solche in unserem Falle kommen, mit den hohen Zahlen aus den genauen Angaben und Befunden von Neuberg und Richter zusammen, die sich ja außerdem vor einer experimentellen Aufgabe besonderer, mehr präparativer als analytischer Art sahen, so wird man trotz der Bewertung der auf Hitzekoagulation beruhenden Methode einsehen, daß die Summe der denkbaren Fehlerquellen im ungünstigsten Falle sich in wenigen Prozenten der ermittelten und zur Diskussion gestellten Substanzen ausdrücken läßt. Auch haben die Autoren weitere Sicherstellung ihrer Zahlen durch Kontrollproben erstrebt. Der bei verwandten Zahlenverhältnissen sicher als endgültig anzusehenden Festlegung der Frage nach Art und Menge wie Herkunft dieser Zerfallsprodukte und der erschöpfenden fermentchemischen Betrachtung haben wir nichts hinzuzufügen.

Dahingegen haben wir zu diesen Ergebnissen über die chemische Blutuntersuchung bei akuter gelber Leberatrophie, von der Neuberg und Richter selbst sagen, daß merkwürdigerweise genaue Blutuntersuchungen bei bestehender Aminosäureausscheidung im Harne bisher nicht ausgeführt worden sind, neue Resultate hinzugefügt. Keine Untersuchungen existieren nach unseren Kenntnissen über Harnstoffgehalt des Blutes, über

---

[1]) J. Feigl, Vortrag im Ärztl. Verein zu Hamburg. Sitzung am 2. Mai 1916. Hambg. Ärzte-Korrespondenz **1916**, Nr. 20, S. 223; Deutsche med. Wochenschr. **1916**, 40.

[2]) I. Bang, Methoden zur Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile, S. 22, Wiesbaden 1916.

Purin und Harnsäure, über Kreatinin und Kreatin, sowie über Ammoniak, endlich über weitere mittelbar richtige Komponenten des intermediären Stoffwechsels. Endlich fehlt es völlig an zeitlich in passenden Stufen fortgeführten Untersuchungen über Entwicklung und Verlauf dieser Erscheinungen im Stickstoffumsatz. Die von uns aufgeworfenen Fragen wurden vollständig nach den derzeit besten Methoden bearbeitet und ganz unter den Gesichtspunkt des Reststickstoffproblems gestellt.

Im übrigen gelten natürlich für die Chemie des Blutes, was zunächst den Gehalt an frei gelösten Aminosäuren angeht, grundsätzlich die gleichen methodischen Erwägungen, wie solche vorhin für den Harn entwickelt wurden. So wichtig und wertvoll die Isolierung der Individuen für die Frage des normalen oder abgelenkten Abbaues und gerade zur rechnerischen Bewertung der Diskussion nach ihrem Ursprunge ist, ebensowenig ist dieses Vorgehen prinzipiell geeignet, von der Gesamtheit der im Blute kreisenden Aminosäuren einen objektiven Maßstab zu geben. Es mußte also versucht werden, nach dieser Richtung weiteres Material zu beschaffen. Dieses kann nur durch Bestimmung des Stickstoffgehalts der isolierten Gesamtaminosäurefraktion geschehen. Sucht man in den vorhandenen Publikationen über akute gelbe Leberatrophie nach experimentellen Untersuchungen zu dieser Frage, so findet man dort nichts Verwandtes, wofern man nicht einen Befund, den v. Bergmann im Anschlusse an eine gemeinsame Arbeit mit L. Langstein erhoben hat, hier einreihen will[1]). Es wurde eine Erhöhung des summarischen Reststickstoffs gegen die Norm festgestellt. Die Zahl war rund 90 mg in 100 ccm Serum. Angesichts der damals befolgten Methodik, über deren Werte, wie schon hervorgehoben, nunmehr andere Ansichten aufgekommen sind, kann man das Resultat dieses ersten beim gegebenen Anlasse zweckdienlich angestellten Versuches, den Gesamtreststickstoff zu ermitteln, nur als qualitativ resp. angenähert quantitativ ansehen. Eine stufenweise Wiederholung hat der Autor ebensowenig gemacht wie weitere detaillierende Untersuchungen über die Komponenten. Dagegen hat er im Zusammenhang mit anderen

[1]) G. v. Bergmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **1905**, IV, 40, und G. v. Bergmann und L. Langstein, ebenda S. 26.

Studien zur Reststickstofffrage versucht, aus dem Hitzekoagulat von 270 ccm Blut mit der Naphthalinsulfomethode summarisch die isolierbaren Acylderivate von Aminosäuren zu fassen. Bei dem klinischen Falle, dessen Blut aus dem letzten Stadium stammte, wurden 2,3 g krystallisierbarer Substanz isoliert, während Tierversuche unter alimentären Verhältnissen weit weniger lieferten. Es lassen sich hieraus also keineswegs absolute, höchstens relative Vorstellungen über diese Komponenten des Gesamtreststickstoffs ableiten.

Endlich wissen wir, daß nicht nur die Aminosäuren ganz allgemein, sondern vorherrschend in bestimmten, dem abgelenkten Abbau adäquaten Vertretern über jedes der Norm nahestehende Maß hinaus angestaut vorkommen, sondern daß auch Harnstoff angereichert sein soll. Gerade dieser Punkt ist es, der unsere Aufmerksamkeit auf eine weitere Frage lenkt, nämlich die an den meisten Fällen beobachteten, oft keineswegs geringgradigen Störungen der Nierenfunktion. Albuminurie wurde fast stets, das Auftreten von Cylindern häufiger, das klinisch-anatomische Bild der parenchymatösen Nierenschädigung von Umber regelmäßig bei drei obduzierten Fällen wiedergefunden[1]). Mit dieser hängt natürlich im engsten die Frage nach dem Grade der an der Reststickstofferhöhung meßbaren Retention der harnfähigen Substanzen zusammen. Das verlangt, gleich genau pathologisch-chemisch und anatomisch beforschte Fälle in die Diskussion zu stellen und, wie oben angedeutet, mit der Ermittelung und Beurteilung des Reststickstoffs selbst Bestimmungen von Harnstoff, Kreatinin und Kreatin und Ammoniak und Harnsäure zu verbinden und etappenweise die Entwicklung des Krankheitsablaufes zu verfolgen.

Methoden.

Unter dem Gesichtspunkte des Reststickstoffproblems betrachtet, stellen sich diese Einzelfragen folgendermaßen dar. Dem Gesamtreststickstoff (Nichtproteinstickstoff, Extraktivstickstoff, Krystalloidstickstoff, Filtratstickstoff) werden seine Komponenten nach der von Bang eingeführten schematischen Trennung in zwei Hauptfraktionen zugewiesen[2]). Der Fraktion des

[1]) F. Umber, l. c.

[2]) I. Bang, Methoden zur Mikrobestimmung **1916**, 27.

Harnstoffs, die auch das Ammoniak enthält, steht zur Seite diejenige der Aminosäuren, die alle echten Repräsentanten dieser Gruppe (Monoaminosäuren, Diaminosäuren, Aminodicarbonsäuren, cyklische Aminosäuren) umfaßt, und zu der die Zusammenfassung auch die Purine sowie die Kreatininfraktion (Gesamtkreatinin entsprechend der Summe aus Kreatinin und Kreatin) hinzuzählt. Schon vor der Einführung dieser schematischen Gruppierung durch Bang haben O. Folin und seine Schüler[1]) sowie Myers und Fine[2]), und zwar wahrscheinlich nur diese allein, in systematischen Untersuchungen den Gesamtreststickstoff zugleich mit seinen wichtigen Komponenten, also besonders dem Harnstoff, daneben dem Ammoniak, der Kreatininfraktion und dem Gesamtpurin, bestimmt. Gerade die Untersuchung des Blutes auf Harnstoffgehalt ist im vorliegenden Fall wertvoll, da die gefundene Menge bei einmaliger Prüfung, weit besser noch bei zeitlicher Verfolgung, einen Maßstab für die Retention abgibt, der in sonst üblicher Weise mit dem Gesamtreststickstoff hier nicht beizukommen ist. Die Bestimmung des Gesamtreststickstoffs erfolgt summarisch, der des Harnstoffs ist theoretisch nichts hinzuzufügen. Dahingegen ergeben sich für die Untersuchung auf Aminosäuren verschiedene Gesichtspunkte. Einmal ist die Differenz aus Gesamtnichteiweißstickstoff und Harnstoffstickstoff (genauer dieselbe abzüglich der Fraktion des Harnstoffstickstoffs aus Harnstoff und Ammoniak, berechnet auf ihren Stickstoffgehalt) nach Bang als Aminosäurestickstoff zu führen. Die Fraktion ist wenigstens in der Norm und bei alimentären Schwankungen weit überwiegend von den echten Aminosäuren beherrscht, doch sind in ihr ja auch Purin und Kreatinin wie Kreatin enthalten. Diese sind andererseits einzeln als solche bestimmbar und können hinsichtlich ihres Stickstoffgehaltes eingesetzt und abgerechnet werden, wobei dann eine geläuterte summarische Aminosäurefraktion durch Differenzbestimmung erzielt wird. Andererseits ist diese direkt feststellbar nach den bewährten gasometrischen Methoden von v. Slyke

[1]) O. Folin und W. Denis, Journ. of Biolog. Chem. **1912**, XI, 527; ebenda **1914**, XVII, 46.

[2]) V. Myers und Fine, Journ. of Biolog. Chem. **1915**, XX, 398; ref. Chem. Zentralbl. **1915**, II, 486.

und seinen Mitarbeitern[1]), modifiziert von Rosenberg[2]), sowie auf colorimetrischem Wege in Anlehnung an ältere Versuche von Abderhalden und Lampé[3]), sowie deren analytischen Weiterbildung durch Harding und Mac Lean[4]).

O. Folin und W. Denis haben eine colorimetrische Bestimmung des Tyrosins mit Hilfe ihres Phenolreagens angegeben, die sich, in unserem Falle sinngemäß angewandt, gut handhaben ließ, der aber von Abderhalden merklich höhere Werte, wenigstens im Vergleich zur üblichen hydrolytisch-präparativen Bestimmung des Gehaltes von Protein an dieser Aminosäure, nachgesagt werden[5]).

Für die Bestimmung des Kreatinins und Kreatins besitzen wir die bewährten Methoden von O. Folin, deren Gang darin besteht, zuerst das fertig gebildete Kreatinin und anschließend nach erfolgter Hydrolyse aus dem Gesamtkreatinin und dem neu gebildeten Kreatinin, das ursprüngliche Kreatin durch Differenz zu berechnen[6]). Die Ermittelung der Purinfraktion, ausgeführt durch Bestimmung der freien Harnsäure, genauer wohl der Xanthinkörper, erfolgt im Sinne der schönen Methodik von O. Folin bzw. O. Folin und W. Denis[7]), bzw. ihrer Weiterbildung durch Steinitz einerseits[8]), bzw. S. R. Benedict andererseits[9]) unter Rücksichtnahme auf Angaben von Schiller und Wiener. Fassen wir diese methodischen Gesichtspunkte zusammen, so sehen wir, daß weiterhin die eigentlichen Aminosäuren durch Differenzberechnung und nach zwei verschiedenen selbständigen Methoden bestimmbar, somit auch genügend sicher

---

[1]) L. v. Slyke und Mitarbeiter, Journ. of Biolog. Chem. **1913/14**, XVI, 187 ff.

[2]) Rosenberg, Deutsche med. Wochenschr. 1914; nach Chem. Centralbl. **1914**, II, 87.

[3]) E. Abderhalden und A. Lampé, Zeitschr. f. physiol. Chem. **83**, 136, 1913.

[4]) V. Harding und R. Mac Lean, Journ. of Biolog. Chem. **1915**, XX, 217; ref. Biochem. Centralbl. **1915**, II, 630.

[5]) O. Folin und W. Denis, Journ. of Biol. Chem. **1912**, XII, 245.

[6]) O. Folin, Journ. of Biolog. Chem. **1914**, XVII, 469; und XVII, 46.

[7]) O. Folin und W. Denis, Journ. of Biolog. Chem. **1913**, **14**, 29.

[8]) Steinitz, Zeitschr. f. physiol. Chem. **1914**, 90.

[9]) S. R. Benedict, Journ. of Biolog. Chem. **1915**, XX, 629, und ebenda 633.

darstellbar sind. Nun sind auch für die Harnstoffbestimmungen im ganzen genommen relativ zuverlässige Wege gegeben. Wir benutzten zwei verschiedene Verfahren, für die mikrochemischen Untersuchungen mit geringeren Blutmengen von 1 bis 2 ccm die Methode von Folin[1]), und für die makrochemische das Xantehydrolverfahren[2]). Über die erstere ist nach Bang bekannt, daß sie innerhalb der Norm (und bei hohem Harnstoffgehalt) brauchbare Werte liefert, und die zweite ist bei richtiger Handhabung durchaus zuverlässig. Es war also zur Ermittelung der Vergleichbarkeit der Resultate nötig, das letztere Verfahren bei extremen Zusammensetzungen von Blut an den Werten des ersteren zu erproben, um so zu einem entsprechenden Maßstab zu gelangen. Ammoniak wurde mikrochemisch nach Folin, makrochemisch nach demselben Autor bzw. nach Wolf und Mac Kim Marriot bestimmt. Allen diesen einzelnen Methoden gegenüber ist die Isolierung des Gesamtreststickstoffs technisch der mit den meisten Bedenken behaftete Prozeß. Wir benutzten die Eisenmethode von Rona und Michaelis unter sämtlichen Kautelen und stellten ihr zur Seite die Enteiweißung mit der von J. Greenwald eingeführten Trichloressigsäure bei Nachbehandlung mit Kaolin[3]). Makrochemisch arbeiteten wir mit der Destillation, mikrochemisch nach Folin mit der Überführung im Luftstrom bei gewöhnlicher Temperatur. Auch wurde, was ebenfalls von Wert erschien, Blutzucker durch Gesamtreduktion und Restreduktion bestimmt, zunächst als Ausdruck klinisch-diagnostischer Interessen, dann aus experimentell-methodischen Rücksichten, auf die wir später noch eingehen wollen. Die Untersuchung auf Gesamtreduktion, Restreduktion und Blutzucker wurde nach den bewährten Methoden von Bang — vergleichend durch die Hydroxylaminmethode und die Jodometrie — in Anlehnung an die von Hegler und Schumm gegebene Ausführungsform insbesondere zur Ermittelung des Betrages der Restreduktion gemacht[4]). Cholesterin wurde nach Authenrieth bestimmt[5]). Über die Lipoide, genauer über die gesamten

---

[1]) O. Folin und W. Denis, Journ. of Biolog. Chem. **1912**, XI, 527.
[2]) R. Fosse, Compt. rend. **1901**, 143, 749; **1907**, 145, 813.
[3]) J. Greenwald, Journ of Biolog. Chem. **1915**, XXI, 61.
[4]) Vgl. dazu Verf., diese Zeitschr. 77, 189ff., 1916.
[5]) W. Authenrieth und Funk, Münch. med. Wochenschr. **1913**, 23.

Phosphatide, lassen sich Aufschlüsse gewinnen an Hand der praktisch sicher wertvollen Methodik der Phosphorverteilung von J. Greenwald[1]). Er stellt der säurelöslichen, im wesentlichen anorganischen Phosphorsäure den durch Pikrinessigsäure gemeinsam mit den Proteinen fällbaren Lipoidphosphor gegenüber. Namentlich an den Ergebnissen der ersteren war uns wegen der Frage der Nierenschädigung gelegen — der Retention anorganischer Salze —, hat doch der Autor dieser damit dienen wollen. Ferner ist es von Interesse, im Anschluß an die bei Stickstoffbilanzen zur Frage des Ansatzes gegenüber der (vorübergehenden) Retention befolgte Betrachtung der Proportionalität zwischen N und P den Stickstoffverlust (Gesamt-, Amino-, Purin-) in Beziehung zum letzteren zu setzen.

Über die von uns untersuchten Fälle seien in Kürze folgende Angaben gemacht.

Es handelt sich, was den genau durchuntersuchten angeht, um eine 54 jährige Frau, die früher angeblich Schlaganfall und anschließend kurzdauernde Lähmungen erlitten hatte. Kein Anhalt für Lues aus der Anamnese, Wassermann am 12. V. negativ (Dr. Graetz, Serolog. Abtlg. unserer Anstalt). Aufnahme am 1. V. 1914 mit völlig uncharakteristischen, vorherrschend rheumatischen Beschwerden, die fortdauerten. Verdauungsstörungen, besonders Verstopfung. 17. V. leichter allgemeiner Ikterus, hypocholischer Stuhl. 21. V. starker Ikterus, völlig farblose Stühle. 12. VI. leicht benommen, Leber offensichtlich und deutlich verkleinert, kaum druckempfindlich. 14. VI. kaum Nahrungsaufnahme. 17. VI. tiefe Benommenheit, Leber nicht mehr palpabel; 18. VI. Exitus. Aus dem Sektionsbefund (Dr. Fahr): Milz beträchtlich vergrößert, Leber ganz beträchtlich verkleinert — 730 g —, von schlaffer, teilweise halbflüssiger Konsistenz; stellenweise sind Zeichnung und Struktur völlig verloren gegangen. Spezifische Befunde an den übrigen Organen sind nicht erhoben worden, auch haben sich in der Niere, der besondere Aufmerksamkeit gewidmet wurde, keine Veränderungen nachweisen lassen, die das Bild der akuten gelben Leberatrophie zu komplizieren imstande gewesen wären (etwa im Sinne eines Morbus Brightii). Die zeitliche Verfolgung der Erscheinungen verdanken wir einem Zufalle, insofern, als während des uncharakteristischen Vorstadiums der Krankheit alle möglichen diagnostischen Wege betreten und zur Sicherheit wiederholt wurden, bis die Ergebnisse über Reststickstoff und Harnstoff usw. vom 21. Mai in Beziehung zu Harn- und Kotuntersuchungen wie besonders der klinischen Beobachtung mit dem Eintreten des Ikterus die Lage klärten, wor-

[1]) J. Greenwald, Journ. of Biolog. Chem. **1915**, XXI, 92. Untersuchungen größeren Umfanges von J. Feigl bei Th. Rumpel und A. V. Knack, Deutsche med. Wochenschr. **1916**, 9. Nov. ff.

auf unverzüglich zur genauen experimentellen Bearbeitung geschritten wurde.

Der zweite Fall bot gleichfalls keine Anzeichen für eine Brightsche Erkrankung, aber Fettspeicherung (Dr. Fahr), die der Obduzent in Beziehung zu einer Arbeit von Landau in weiterem Umkreise beforscht.

Über den dritten, uns zur Untersuchung freigestellten Fall besitzen wir ähnliche Angaben.

Darstellung der Ergebnisse.

Die Ergebnisse der chemischen Blutuntersuchung sind in den folgenden, entsprechend einmal dem Stickstoffgehalte, ferner den Molekülen, jeweils in Milligramm pro 100 ccm Blut, Tabellen I und II angeordnet. Aus der Tabelle III ist kurvenmäßig der Verlauf der Beobachtungen ersichtlich. Besonders gut kommt darin der mäßige Anstieg des Harnstoffs, der hohe des Gesamtreststickstoffs, des Gesamtaminostickstoffs und dessen aus der Fraktion der wahren Aminosäuren zum Ausdruck. Die Diffe-

Tabelle I.

Untersuchungen über den Gesamtreststickstoff des Blutes und seine Zusammensetzung. I.

Darstellung der Hauptfraktionen nach dem Stickstoffgehalt; Milligramm in 100 ccm Blut.

Datum	Gesamt-Rest-N	Harnstoff-N		Aminosäuren-N					
				Fraktion nach Bang		Fraktion berechnet		Fraktion bestimmt durch	
	mg	mg	%	mg	%	mg	%	Gasometrie	Colorimetrie
5. Mai	32,0	14,0	44,0	18,0	56,0	14,0	44,0	—	—
17. „	40,0	15,0	37,5	25,0	62,5	21,0	52,5	—	—
21. „	70,0	20,0	29,0	50,0	71,0	45,0	64,0	42,0	50,0
1. Juni	80,0	22,0	27,5	58,0	72,5	50,0	62,5	40,0	52,0
14. „	122,0	24,0	20,0	98,0	80,0	82,0	67,0	75,0	78,0
17. „	182,0	32,0	18,0	150,0	82,0	130,0	71,0	115,0	140,0
18.[1]) „	256,0	56,0	22,0	200,0	78,0	175,0	68,0	160,0	172,0

Bemerkungen. Fraktion der Aminosäuren nach Bang = Differenz aus Gesamt-Rest-N und Harnstoff-N.

Fraktion der Aminosäuren, berechnet = Aminosäuren nach Bang, abzüglich des Purin-, Kreatin- und Kreatininstickstoffs.

Gasometrie nach van Slyke-Rosenberg.

Colorimetrie nach Harding-Mac Lean.

Die berechneten Werte und Prozente sind stark abgerundet.

[1]) Leichenblut, frisch.

Tabelle II.

Untersuchungen über den Gesamtreststickstoff des Blutes und seine Zusammensetzung. II.

Darstellung der Hauptfraktionen und Individuen als Substanzen; Milligramm in 100 ccm Blut.

Datum	Gesamt-Rest-N mg	Harnstoff $CO<\frac{NH_2}{NH_2}$ mg	Ammoniak NH_3 mg	Kreatinfraktion: Gesamt-Kreatinin mg	Kreatinfraktion: Kreatinin mg	Kreatinfraktion: Kreatin[2]) mg	Gesamtpurin-Harnsäure mg	Aminosäuren berechnet[3])	Aminosäuren gefunden[4])
5. Mai	32,0	30	0,13	7,4	1,6	6,7	4,2	—	17. VI.: Tyrosin 215,0 Leucin 420,0 Glycin 155,0
17. „	40,0	32	—	7,4	1,8	6,5	4,0	—	
21. „	70,0	43	0,20	8,4	2,4	7,0	5,0	450,0	
1. Juni	80,0	47	4,00	14,0	4,0	11,6	8,0	500,0	
14. „	122,0	51	0,60	22,0	16,0	9,2	20,0	800,0	
17. „	182,0	69	5,00	38,0	8,0	34,8	25,0	1300,0	
18.[1]) „	256,0	120	—	42,0	10,0	36,1	30,0	1700,0	

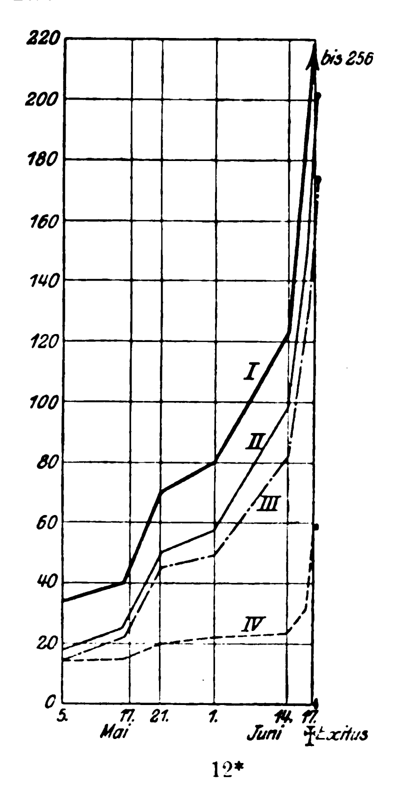
Tabelle III.

Untersuchungen über den Gesamtreststickstoff des Blutes und seine Zusammensetzung.

Darstellung der Hauptfraktionen nach dem Stickstoffgehalt.

——— Gesamtreststickstoff.
-·-·-·- Gesamtaminostickstoff (einschließl. Purine, Kreatinine).
—·—·— Aminosäurestickstoff.
- - - - Harnstoffstickstoff (einschließlich Ammoniak).

mg in 100 ccm Blut.
Zeit in Tagen.



[1]) Leichenblut, frisch.

[2]) Ber. als Differenz, multipliziert mit dem Faktor 1·16.

[3]) Faktor siehe Text, Zahlen angenähert geschätzt.

[4]) In Serum, Vollblut rund 20 % weniger.

renz zwischen den beiden letzten Größen läßt schon aus der Gestalt der Kurven Schlüsse auf die Schwankungen im Stickstoffgehalt der Purin- und Kreatiningruppe zu. Die Entnahmen vom 15. und 17. Mai entsprechen dem uncharakteristischen Vorstadium, die vom 21. enthält die auffälligen, zu weiteren Arbeiten Anstoß gebenden Befunde. Diese wurden am 1. und 14. Juni bei fortschreitender Entwickung des Prozesses gemacht; bereits am 17. war Patient unter Zeichen schweren Verfalls moribund. Das Leichenblut war frisch. Alle mittelbar errechneten Zahlen sind stark abgerundet.

Tabelle IV enthält die Nebenbefunde.

Tabelle IV.

Weitere Blutuntersuchungen über Gesamtreduktion, Restreduktion, Zucker, Cholesterin und Verteilung des Phosphors.

Datum	Gesamt-Rest-N mg	Rest-N,[1]) Summe der reduzierenden Komponenten	Gesamtreduktion Makro Bang	Gesamtreduktion Mikro Bang	Restreduktion	Wahrer Zucker	Cholesterin	Phosphorverteilung Lipoid-Phosphor	Phosphorverteilung Säurelöslich. Phosphor
5. Mai	32,0	11,5	0,090	0,090	0,040	—	0,13	8,0	10,2
17. „	40,0	11,5	0,100	0,090	0,030	—	—	—	—
21. „	70,0	13,5	—	—	—	—	0,14	7,8	12,2
1. Juni	80,0	22,0	0,112	0,100	0,060	—	0,18	—	—
14. „	122,0	42,0	0,130	0,125	0,075	0,06	0,27	4,1	18,8
17. „	182,0	63,0	0,140	0,140	0,080	0,06	0,40	4,2	24,6
18. „	256,0	72,0	—	—	—	—	—	—	—

Vorstehende Tabellen illustrieren in verschiedener Anordnung die Entwicklung der den Reststickstoff betreffenden Verhältnisse, deren Grundzüge in folgendem zusammengefaßt seien.

Was zunächst den gesamten Nichtproteinstickstoff angeht, so beginnt die Reihe am 5. Mai mit einem noch normalen, aber der oberen Grenze nahen Werte. Diese wird sowohl bei Anwendung der Eisenmethode in präziser Ausführung[2]), wie auch durch das neue Verfahren von Bang beim Gesunden für

[1]) Ber. nach ihrem N-gehalt.

[2]) J. Feigl, diese Zeitschr. **77**, 193, 1916; Ärztl. Verein zu Hamburg, Sitzung vom 2. Mai 1916; Hamb. Ärzte-Korresp. **20**, 223, 1916; Deutsche med. Wochenschr. **1916**, 40; Naturwiss. Verein zu Hamburg, Sitzung vom 21. Juni 1916.

100 ccm Vollblut im nüchternen Zustande zu 35 mg in 100 ccm Blut festgelegt[1]), nachdem Folin ursprünglich 26 mg für 100 ccm Vollblut[2]), später in fortgesetzten Untersuchungen nicht unerheblich mehr angegeben hat[3]). Die untere Grenze liegt um 20 mg; Angaben über den größten denkbaren alimentären Umfang der Tagesschwankungen können nach anderweitigen Versuchen von Pepper und Austin zu unter 10 mg geschätzt werden[4]). Eingehenderes Material bieten die Untersuchungen von Bang bei mäßiger, reichlicher und übermäßiger N-Zufuhr, bei Wassereinwirkung usw. Mit diesen Zahlen sind die wichtigsten (nach Bang mit denen von Folin zugleich die einzigen stichhaltigen) Standardwerte gegeben. Die Zahl 40 mg in 100 ccm Blut liegt bereits an der Schwelle des Bereichs pathologisch gesteigerter Werte. Der weitere Anstieg in den letzten Lebenstagen ist ganz erheblich und wird durch den plötzlichen Aufschwung beim Exitus noch überboten; dieser ist auf die beim Erlöschen der Lebensfunktionen einsetzende Verlangsamung der Ausscheidung unter Autolyse zurückzuführen. Bisherige Beobachtungen an Nieren- und Lebergesunden lehren, daß die terminale Azotämie sich in einem Aufschnellen des Gesamtreststickstoffs verfolgen läßt. So finden z. B. Dumitrescu und Popescu einen — hier in relativer Form zitierten — Anstieg von 1 auf 5 des Gesamtreststickstoffs aus der Norm bis zum Moment des Todes[5]). Was nun die erreichten absoluten Höhen des Reststickstoffs anlangt, so sind sie in diesem extremen Falle doch nur derart, daß sie denen bei echten Urämien nachstehen, für die solche, auch vor dem terminalen Anstieg, von 300 mg in 100 ccm Blut und mehr beschrieben sind (O. Folin und W. Denis, Myers und Fine, Bang u. a.).

Näheren Einblick in das Gefüge des Nichtproteinstickstoffs gewährt die Aufteilung. Nach Folin und Bang kann der Harnstoffgehalt in weiteren Grenzen schwanken. Der erstere

[1]) I. Bang, Methoden zur Mikrobestimmung usw., S. 29.

[2]) O. Folin und W. Denis, Journ. of Biolog. Chem. **1912**, XI, 527.

[3]) O. Folin und W. Denis, Journ. of Biolog. Chem. **1914**, XVII, 487.

[4]) O. H. Pepper und J. H. Austin, Proc. Soc. Exp. Biol. **1914**, XII, 8, 179. J. Feigl und A. V. Knack, Centralbl. f. inn. Med. **1917**.

[5]) D. Dumitrescu und A. Popescu, nach Biochem. Centralbl. **1915**, XVIII, 184.

nennt für die Norm im nüchternen Zustande 12 bis 15 mg in 100 ccm Vollblut, der letztere 10 bis 15 mg mit Variationsbreiten bis hinauf zu 20 mg[1,2]). Aus dem Zusammenspiel des Schwankens der komplexen Größe sowie dieser letzteren Fraktion geht der weite Umfang der Prozentzahlen hervor. Nach zahlreichen Befunden leitet Bang für den Durchschnitt das Zahlenverhältnis 1 : 1,2 für Harnstoff und Aminosäurestickstoff (beide als Fraktionen angesehen) ab. Danach sind die Harnstoffprozente des Gesamtreststickstoffs bei normalen Nüchternwerten zu rund 45 bis 55 anzusehen[3]). Verfolgen wir mit diesem Maßstab unsere Untersuchungsreihe, so sehen wir, daß bereits die zweite Entnahme vom 17. Mai mit dem noch normalen absoluten Harnstoffgehalt einen bereits leicht erhöhten Gesamtnichteiweißstickstoff zu dem schon unter der üblichen Variationsbreite liegenden Wert von 37,5% vereint. Diese Prozentzahlen sinken über 29,0 und 27,5 zunächst mäßig, dann energischer auf 20,0 und 18,0 weiter. Diese relative Größe bleibt beim Exitus mit 22 annähernd erhalten. Was nun die absoluten Stickstoffwerte der Harnstrofffraktion angeht, so ist ihr Anstieg mäßig, und erst gegen das Lebensende am 17. Juni wird ein größerer Sprung auf 32 ersichtlich. Während sich bis dorthin die Zahlen über das Doppelte der Norm nicht erheben, bringt der Exitus den Anstieg auf 56 mg in 100 ccm. Die Harnstoffbeträge sind gering und illustrieren im Verein mit den übrigen Beobachtungen das Fehlen einer irgend beträchtlichen N-Retention, bei der sonst ganz erhebliche Zahlen, im Extrem bis zu 300 mg in Frage stehen.

Die Gesamtaminosäuren, in der Fraktion nach Bang zusammengefaßt, steigen absolut und relativ allmählich an, wie sich aus dem Anwachsen der Prozentzahlen von 56 über 70 auf 80 und 82 ergibt. Der endlich eintretende geringe Abfall von 82% auf 80% hängt mit dem Erlöschen der Lebensfunktion zusammen, indem der Anstau der Schlacken, gemessen am Harnstoff, das Auftreten der Aminosäuren relativ zurückzudrängen scheint.

Da nun der Schwerpunkt des Problems weniger in dem

---

[1]) O. Folin und W. Denis, Journ. of Biolog. Chem. **11**, 527, 1912.

[2]) I. Bang, Mikrobestimmungen.

[3]) Siehe auch diese Zeitschr. **76**, 277, 1916.

Harnstoff-N als in der Gesamtheit des Aminosäure-N liegt, ist diese weiter beforscht worden, wie nun zu erörtern ist. Der Stickstoffgehalt der Purin- und Kreatininfraktion, die für sich um ihrer selbst willen in den Kreis der Betrachtungen gezogen wurden, läßt sich zusammenfassen und ergibt, von dem Gesamtaminostickstoff in runder Zahl abgerechnet, einen Betrag für den wirklichen Aminosäure-N, dessen Bewegungen aus der betreffenden Reihe ersichtlich sind. Die nun in Rücksicht auf den Gesamtreststickstoff ermittelten Prozentzahlen fallen um rund 10 Einheiten niedriger aus und zeigen bei dieser Abartung des Stickstoffhaushalts den bisher überhaupt beobachteten relativen Höchstwert an echten Aminosäuren im Nichteiweißstickstoff, für dessen Aufbau unter pathologischen Verhältnissen ein kasuistisch interessantes Material liefernd. Ohne methodenkritische Betrachtungen anzustellen, die hier interessant wären, weisen wir darauf hin, daß die mit der Gasometrie erzielten Befunde stets, aber nicht proportional niedriger sind als die errechneten. Gleichzeitig fallen die mit der Ninhydrincolorimetrie versuchsweise ermittelten höher aus. Da wir eine auf genauer experimenteller Kenntnis beruhende Bewertung der Fehlerquellen und eine Kritik der relativen Stichhaltigkeit der Einzelbefunde in den drei Zahlenreihen nicht in Händen haben, kann ein rechnerischer Ausgleich unter diesen nicht anerkannt werden. Indes würden sich im ganzen die wirklichen Werte wahrscheinlich niedriger stellen als die dergestalt interpolierten.

Auf welchem Wege ließ sich nun eine Brücke schlagen, um, in Anlehnung an die Befunde von Neuberg und Richter, aus dem summarischen Stickstoff etwas über die Konzentration an Aminosäuren sowie Art und Menge der vorhandenen Individuen auszusagen? Zum Vergleich wurde aus dem Aderlaßblute vom 17. Mai sorgfältig Serum gewonnen und in nahezu demselben Gange experimentell, wie beschrieben, zwecks Bestimmung krystallisierbarer Individuen der Aminosäurefraktionen vorgegangen. Auch wir stießen zunächst auf Tyrosin und Leucin, die beide relativ leicht in gutem, analysenreinem Zustande gewonnen wurden. Wir fanden in 300 ccm Serum 0,64 g Tyrosin, 1,05 g Leucin. Die Tyrosinfraktion erwies sich, später aus Eisessig und salzsäurehaltigem Alkohol weiter gereinigt, schon im rohen Zustande colorimetrisch nach O. Folin

und W. Denis gegen reine Substanz geprüft, als fast 93 %. Stickstoff, gefunden 7,90 %, berechnet 7,73 %, 0,1175 g = 0,17 g N bei 17° und 754 mm.

Auffällig war dagegen, daß die Mutterlauge der rohen Tyrosinfraktion sehr starke Reaktionen mit Glyoxylsäure, sowie mit Brom auf Tryptophan gab und zudem abspaltbaren Schwefel enthielt. Es wurde mit einem weiteren Anteile Blut — zu diesem Zwecke konnten jedoch nur 200 ccm am 18. Juni bereitgestellt werden — der Versuch wiederholt. Dabei wurde durch sorgfältige Koagulation enteiweißt, das Filtrat in 50 ccm mit wenig Eisenhydroxyd unter Kühlung nachbehandelt und mit dem Reste obiger Mutterlaugen nach Neuberg und Popowski[1]) auf Tryptophan aufgearbeitet. Krystallisierbare Fraktionen ließen sich nicht, dagegen starke Reaktionen wiederum erzielen. Der Befund konnte somit nicht direkt ausgebeutet werden. Beweiskraft erlangte er u. E. durch genau parallel gehandhabte Aufarbeitung von gleichen Anteilen normaler Sera in drei Fällen und urämischer, harnstoffreicher Sera in zwei Fällen. Diese ließen sich nicht zu ähnlichen Ergebnissen bringen, so daß der Befund hinsichtlich angereicherter Mengen an Tryptophan in dieser Form wenigstens erhärtet werden konnte.

Das Leucin ließ sich in einer Beschaffenheit, wie sie solcherart isolierbaren Präparaten überhaupt zu verleihen ist, gewinnen, wobei zunächst die Menge Rohprodukt, dann reine Substanz festzustellen war.

$C_6H_{13}O_2N$. Ber. C 54,96 %, H 9,9 %, N 10,69 %
Gef. C 54,92 %, H 10,08 %, N 10,76 % F. P. 279°.

Aus den Mutterlaugen konnte mit dem ungemein leistungsfähigen analytischen Verfahren der Uramidosäureaktion von Lippich[2]) ein Anteil isoliert werden, der rein 15,9 % N (ber. 16,09) enthielt und 0,21 g Leucin entsprach.

Da wir aus der Arbeit von Neuberg und Richter die Sicherstellung des Befundes über Lysin kennen, die Untersuchung auf Glykokoll (bzw. Alanin) hinsichtlich der Auffassung von Bergell und Blumenthal, sowie der Versuche von

---

[1]) C. Neuberg und N. Popowski, diese Zeitschr. **2**, 355, 1906, Festschrift für Joh. Orth.

[2]) F. Lippich, Zeitschr. f. physiol. Chem. **90**, 124, 1914.

v. Bergmann mit der Naphthalinsulfochloridmethode erhöhtes, bisher nicht orientiertes Interesse beanspruchte, wurde das Filtrat von Tyrosin und Leucin auf diese Aminosäuren aufgearbeitet. Es enthält, nachdem die krystallisierbaren Tyrosin- und Leucinanteile 27 % des vorhandenen Stickstoffs umfaßten, noch rund 66 % des ursprünglich isolierten (berechneten) Aminosäurestickstoffs also 90 mg in 100 ccm — und wurde nach Zusatz von 10 % Alkohol mit einem kleinen Quantum (2,0 g) bester Blutkohle, wie bei Blutzuckeruntersuchungen und der von Bang gegebenen Ausführung der Formoltitration üblich, unter Beigabe von Pikrinsäure in gelindem Überschusse in 100 ccm Gesamtvolumen 2 Stunden geschüttelt. Dabei sollten Kreatinin und Lysin als Pikrate sowie die Purine durch Adsorption entfernt werden[1]). Das klare Filtrat wurde im Kolbenvakuum unter Zusatz von 1,0 g Kaliumbicarbonat und mehrfacher Ergänzung mit Alkohol bei 30° des Bades schließlich nach leichtem Ansäuern mit Salzsäure zur Trockne gebracht. Der Rückstand wurde gekühlt, nach Lippich mit Alkohol-Amylalkohol zur Entfernung von Harnstoff[2]) (und Pikrinsäure) behandelt und in dem wieder auf 50 ccm aufgefüllten Filtrat in naher Anlehnung von Angaben von Bingel zur Isolierung von Naphthalinsulfokörpern verfahren[3]), wobei zur Bemessung der Mengen an Reagenzien durch Schätzung der 20fache Gehalt der Norm an acylierbarer Substanz angenommen wurde. Die Abtrennung des nach allen bisherigen Erfahrungen an zahllosen Irrtümern schuldigen Amids der Sulfosäure geschah ebenfalls nach Bingel. Es wurde durch Impfen ein krystallisiertes Rohprodukt vom Schmelzpunkt 132° gewonnen, dessen Menge trocken 2,16 g betrug, worin rund 0,75 g Glykokoll enthalten sein konnten. Bei weiteren mühsamen Arbeiten wurde der Schmelzpunkt auf 154° gebracht, wobei fast $^1/_4$ der Substanz in die Mutterlauge ging und 1,62 isoliert wurden. Die reine Substanz verlangt 159°. Aus Wasser erneut umkrystallisiert und im Vakuum getrocknet, ergab die Substanz für das Naphthalinsulfoglykokoll stimmende Werte.

---

[1]) I. Bangs Kohlemethoden für Chlorid, Aminosäuren usw.
[2]) F. Lippich, Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 160, 1906.
[3]) A. Bingel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 57, 384, 1908.

$C_{12}H_{11}O_4NS = 265.$

0,1552 g, 10,8 ccm N 20°, 7,50 mm Hg

0,1874 g, 0,3619 g CO_2, 0,0781 g H_2O

Gef. C 53,93 %, H 4,30 %, N 5,10 %

Ber. C 54,34 %, H 4,15 %, N 5,28 %

Der gefundenen Menge würden 0,465 g Glykokoll entsprechen, die aus 300 ccm Serum stammten und von dem restlichen (an der betreffenden Stelle neu analytisch ermittelten) Stickstoff von 270 mg 82,4 mg in Anspruch nehmen. Da nun die Ausbeute von Acylderivat auch in rein präparativen Verhältnissen 85 % nicht zu übersteigen pflegt[1]), da aber andrerseits diese Methode auch unter schwierigen Verhältnissen, richtig gehandhabt und beurteilt, Erstaunliches leistet, so ist anzunehmen, daß auch von dem beim Umkrystallisieren verlorenen Viertel noch ein gut Teil Glykokoll gewesen ist, so daß sicher an 100 mg des wahren Aminosäurestickstoffs aus 300 ccm Serum, mithin rund ein Fünftel von Glykokoll gedeckt sein konnte[2]). Im übrigen ist an diesem Werte dann zunächst die Kritik des rechnerischen Ausgleichs zwischen Serum und Vollblut zu erheben, im letzteren derselbe angenähert also auf rund 75 mg in 300 ccm zu beziffern. Zur Illustration dieses Befundes sei hervorgehoben, daß es neben der Handhabung der eigentlichen Acylierung die experimentelle Vorbehandlung ist, die dieses Ergebnis ermöglicht hat. So ist zweifellos das reine Blutfiltrat nach der Enteiweißung an sich ein schwieriges Objekt, das erst durch die Abscheidung der Tyrosinfraktion und durch die überaus wertvolle Kohlemethode von Bang, kombiniert mit der nach Folin hierher übernommenen Pikratbehandlung, purin-, kreatinin-, ammoniakfrei, ein gangbares Feld bietet[3]). Hierfür wurden experimentelle Prüfungen angestellt, die den Gegenbeweis lieferten und über die später berichtet werden soll. Verf. konnte sich ferner eines Blutes bedienen, daß aus einem Fall experimenteller Phosphorintoxikation bei gleichzeitiger Glykokollgabe herrührte. Der reine Aminosäurestickstoff betrug 180 mg. Bei Verarbeitung von 100 ccm Serum im gleichen methodischen

[1]) E. Fischer und P. Bergell, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **35**, III, 3779, 1902.

[2]) P. Bergell und F. Feigl, Zeitschr. f. physiol. Chem. **51**, 207, 1907.

[3]) F. Feigl, Diss. Berlin 1907.

Gange, wie beschrieben, konnte unter Schwierigkeiten gut krystallisierendes Produkt vom richtigen Schmelzpunkt und Zusammensetzung aufgefunden werden, während die direkte Verarbeitung zwar reichlichere Niederschläge ergab, denen jedoch mit allen Kniffen nicht beizukommen war. Methodisch können daraus manche Lehren gezogen werden, besonders werden dadurch ältere Arbeiten (W. Howell u. a.) in anderer Beleuchtung erscheinen[1]).

Somit wurden aus 300 ccm Serum isoliert Tyrosin 0,64 g; Leucin 1,25 g; Glykokoll (berechnet) 0,465 g. Sie umfassen zusammen etwas über die Hälfte des Aminostickstoffs nach Abzug der Purin- und Kreatiningruppen. Daß in dieser Summe nach Neuberg ferner Lysin enthalten ist, muß hier angefügt werden, ebenso die von uns festgestellte, präparativ und elementarchemisch nicht, reaktiv und analytisch jedoch unzweifelhaft erhärtete Anwesenheit von Tryptophan.

Nun wurde, da die Verteilung zwischen Körperchen und Serum gerade bei den Aminosäuren (besonders hier!) nicht gleich zu sein braucht, der summarische Reststickstoff, Harnstoff, Gesamtkreatin und Purin des Serums ermittelt. Die Werte lauteten für 100 ccm Serum: Ges. R.-N 208; $\overset{+}{\text{U}}$r-N 33; Gesamtkreatinin 42,5; Purin 28; die Gesamtaminosäure-N nach Bang demnach rund 175 mg; woraus der berechnete N der echten Aminosäuren zu angenähert 155 mg bestimmt, und fast 20% höher als im Vollblut gefunden wurde. Diese Zahlen bieten ein nicht durchaus fremdartiges Bild; ihre Kenntnis ist zur Bewertung der präparativen Ergebnisse wünschenswert.

Die Beobachtung der Kreatininfraktion ist enthalten in lückenlosen, nicht kontinuierlich veränderten Werten und bietet neben neuem statistischen Material an sich interessante Befunde.

Indem wir nur die mit stichhaltiger Methodik gewonnenen bekannten Normal- und Grenzwerte betrachten, sehen wir, daß die drei ersten Entnahmen bei der wahllosen Ernährung Zahlen, an denen pathologische Einflüsse gemessen werden könnten, nicht lieferten. Die Beobachtungen von Folin und dem einen von uns lassen an Gesunden bei gemischter Kost Werte bis

---

[1]) W. Howell, Am. Journ. of Physiol. 17, 237, 1906/7.

zu 2,0 mg Kreatinin und selbst bis zu 10 mg Kreatin in 100 ccm Blut zu[1]). Die später folgenden Zahlen für Kreatinin und Kreatin sind sämtlich, teilweise stark erhöht. Zum Vergleich seien solche über Kreatinin bei Nephritis von Rosenberg zu 20[2]), 25 mg (und selbst 37 mg post exitum), von Myers und Fine zu 20 bis 33 mg[3]), vom Verfasser, vor allem aber die an umfangreichem Material gewonnenen von Folin und Denis genannt, die an Kreatin selten bis hinauf zu 20, häufiger zu 15 und 12 mg fanden[4]). Unsere Zahlen für Kreatin erheben sich auf 35 und 36 mg in 100 ccm Blut, stellen damit die bisher überhaupt ermittelten Extreme dar, was cet. par. für die additive Größe des Gesamtkreatinins auch zutrifft.

Sehr erheblich ist auch die Purinfraktion vertreten mit Werten, die schon am 1. Juni die Norm überschritten und weiterhin Befunde erreichte, die extrem hoch, über die bei Nephriten beobachteten Zahlen von Folin hinaus die bisherige Höchstzahl in den Untersuchungsreihen von Myers und Fine — 27 mg — fast erreichen. Der letale Wert ist die bisher überhaupt gesehene Höchstzahl. Indes fehlt es bisher an Beobachtungen über den Anstieg des Gesamtpurins im Rahmen des terminalen Reststickstoffs. Unter den Ammoniakbefunden bedarf nur die Tatsache des kontinuierlichen Rückganges und späteren Anstiegs einiger, später zu gebender Erläuterungen.

Mit Präzisionsmethodik wurde δ des Blutes gefunden am 1. VI. zu $0{,}55^0$, am 14. VI. zu $0{,}59^0$, am 17. VI. zu $0{,}61^0$.

Besprechung der Ergebnisse.

Was zunächst die absolute Höhe des Gesamtreststickstoffs anlangt, so bleibt er selbst in den höchsten Werten noch erheblich hinter den bei Urämien häufig gesehenen zurück, gar nicht zu reden von den nach Bang experimentell erzielbaren Extremen von 450 mg in 100 ccm Blut[5]). Das ist um so mehr von Interesse, weil die Befunde von Neuberg und Richter sowie auch die Zahlen unseres Falles leicht den Anschein er-

---

[1]) O. Folin und W. Denis, Journ. of Biolog. Chem. 17, 487, 1914.
[2]) O. Rosenberg, Münch. med. Wochenschr. 6, 29, 1916.
[3]) V. Myers und Fine, Journ. of Biolog. Chem. 21, 377, 1915.
[4]) O. Folin und W. Denis, Journ. of Biolog. Chem, 17, 387, 1914.
[5]) I. Bang, Mikrobestimmung.

wecken könnten, als ob bei Leberatrophie der Gesamtreststickstoff ein ganz extrem hoher sein müßte. Diese beiden charakteristischen Fälle, von denen der eine noch mit einer entschiedenen parenchymatösen Nierenschädigung einherging, stehen bisher an der Spitze, was den Reststickstoff des Blutes bei Leberatrophie angeht. Der Fall von v. Bergmann mit 90 mg in 100 ccm Serum und zwei weitere, einmalig untersuchte Fälle I und II von uns mit 148 mg und 127 mg in 100 ccm Blut im späten Stadium bleiben erheblich zurück[1]). Auch die Phosphorintoxikation nach Bang zeigt geringere Werte, Ges.-R.-N 90, Harnstoff-N 28, Aminosäure-N (roh) 62 mg in 100 ccm[2]).

Der Harnstoff hält sich bis zum Tode in Beträgen, die durchaus nicht den Grenzen innerhalb der entsprechenden Störung der Nierenfunktion häufig beobachteter, nahekommen. Da die Zahlen nun aber andererseits offensichtlich die Norm überschreiten und methodisch nach dem jetzigen Stande sichergestellt sind, ist bei dem erwiesenen Fehlen einer irgend beträchtlichen Nierenschädigung (in der Stickstofffunktion) über sie nur so viel mit Wahrscheinlichkeit zur Erklärung auszusagen, daß das mit abbauwürdigem Aminostickstoff überschwemmte Blut fortdauernd auch die Verbrennungsprodukte in vergleichsweise mäßigem Ausmaße führt. Es ist darauf hinzuweisen, daß noch ganz neuerdings von A. Taylor und H. Lewis mit guten experimentellen Gründen daran erinnert wurde, es sei die Harnstoffbildung als eine generelle und ubiquitäre Gewebsfunktion anzusprechen[3]). Sonach könnte der Harnstoff des Blutes vielleicht zum Teil aus Oxydationsvorgängen stammen, die sich unter diesen gänzlich verschobenen Zuständen auf eine allgemeinere Harnstoffbildung zurückführen lassen. Vor allem findet aber hier die Betrachtung von Zahlenwerten aus Arbeiten von I. Bang Raum, der den erheblichen Anstieg des Reststickstoffs zufolge gesteigerter Beimengung von Harnstoff im Hunger gefunden hat.

Will man nunmehr die Mengen des Serums an kreisenden Aminosäuren aus dem Stickstoffgehalt schätzungsweise angeben

---

[1]) Nicht durchaus vergleichbar, weil v. Bergmann sich der damaligen Methode bediente.

[2]) I. Bang, diese Zeitschr. 72, 166, 1916.

[3]) A. Taylor und H. Lewis, Journ. of Biolog. Chem. 22, 1915.

und somit eine Brücke schlagen zu den präparativ-analytischen Befunden, so könnte man in Anlehnung an die Zahlen von Neuberg und Richter, von uns, wie an allgemeine Erwägungen, doch nur auf grobe Annäherung angewiesen, vielleicht einen Stickstoffgehalt von 10 % ansetzen, der dem des Leucins nahe entspricht und überschlagsmäßig das Mittel der denkbaren Voraussetzungen träfe[1]). Damit würde man an Aminosäuren am 21. Mai 450 mg, am 1. Juni 500 mg, am 14. Juni 820 mg, am 17. Juni 1300 mg, post exitum rund 1700 mg in 100 ccm Blut annehmen können, d. h. im schwersten, kaum terminalen Stadium zwischen 14. und 17. Juni würden in 1 l Blut rund 10 g. in den 4 bis 5 l des normalen Erwachsenen rund 50 g Aminosäuren kreisen, von denen rund etwa 80 bis 90 % als außernormal gelten würden, so daß 40 bis 45 g pathochemische Produkte sein würden. Diese ganz grobe Schätzung kann sich leider einer lückenlosen Vorstellung über den Aufbau des Gesamtaminosäurestickstoffs nach den einzelnen Vertretern nicht bedienen. Die für Serum berechnete Zahl übertrifft diese Werte um rund 20 %, d. i. $^1/_5$, also 10,0 g Substanzgemisch erreichend (Kontrollanalyse am 17. VI.). Nimmt man hinzu die Befunde für Tyrosin und Leucin, die zusammen, derart korrigiert, rund 25,0 g erreichen, so bleibt Raum genug für die Annahme, daß das zu rund 6,0 g aus der Analyse gefundene Glykokoll keineswegs, wie Bergell und Blumenthal aus ihrer derzeitigen Harnanalyse folgern, gänzlich nebensäch-

---

[1]) Diese vergleichsweise Rechnung bedarf der Voraussetzung, daß die Gruppierung der Aminosäuren nach Art und Menge im Reststickstoff durch den Verlauf des Krankheitsbildes einheitlich resp. ähnlich bleibt. Für den schwersten Teil desselben mit den unmittelbar rechnerisch verwerteten Zahlen dürfte das wahrscheinlich angenommen werden (14. bis 17. Juni). Ein unzweifelhaft hoher Wert aus dem gesamten Durchschnitte der für normalen Aminosäurestickstoff im nüchternen Zustande gefundenen Zahlen von Bang würde 20,0 mg in 100 ccm Vollblut nach Abzug des Stickstoffs der Purin und Kreatiningruppe sein. Unter obiger Annahme würde sich in schematischer Durchrechnung für 5 l Gesamtblutmenge daraus 1,0 g Aminosäurestickstoff, demnach angenähert 10,0 g eines Gemisches von Aminosäuren ergeben. Diese Zahl würde sich als hoher Normalbetrag — mit der Einschränkung hinsichtlich der Individualität der Zusammensetzung — darstellen und den Gesamtdurchschnitt zu ca. 5,0 g anzunehmen gestatten, wobei also eine schematisierte Vorstellung geschaffen ist, die diesen Betrachtungen dienen kann.

lich und sein Fehlen ein charakteristischer Zug dieser speziellen pathologischen Fermentvorgänge genannt werden kann. Doch soll gerade diese Frage weiter bearbeitet werden.

Kritische Beiträge zur vergleichenden Pathologie des Vorkommens von Aminosäuren im Blute.

Was nun die Höhe dieser summarischen Werte für Aminosäurestickstoff angeht, die einige Tage vor dem Tode zu 82 und 130 mg in 100 ccm Blut, 155 mg in 100 ccm Serum bestimmt wurden, so ist zu dem ungemein instruktiven — und bisher, weil nicht derart beobachtet und gewertet — auch neuartigen Vergleich heranzuziehen, daß selbst gewisse Nephritiden ähnliche Zahlen heraufführen können, obschon bei diesen die Retention vorherrschend die eigentlichen Schlacken umgreift und intermediäre Produkte nicht in solchem Grade einschließt[1]).

Folin und Denis beschreiben in ihrer Zusammenstellung analytisch eine Urämie von Ges.-R-N 212, $\overset{+}{\text{U}}$r-N 132, Gesamtkreatinin 20 mg in 100 ccm Blut; umgerechnet in den Wert des reinen Aminosäurestickstoffs (zuzüglich einer angenommenen, hohen Purinmenge von 9 mg Harnsäure) würde dieser rund 70 mg betragen und sich schon unsern Befunden nähern. Weitere, an sich selten beobachtete Zahlen aus derselben Arbeit dieser Autoren fallen zumeist niedriger aus, an 40 bis 50 mg liegend. Relativ auf Gesamtnichteiweiß-Stickstoff berechnet, würde erstere Zahl für den „reinen" Aminosäure-N trotzdem nur rund 33⁰/₀ ergeben, während die benachbarten nur an 20⁰/₀, die typischen Befunde bei Urämie noch unter dieser Grenze bleiben. Eine chronische Nephritis findet sich eben dort mit Ges.-R-N 200, Ur-N 140, Gesamtkreatinin 13 mg in 100 ccm Blut. Reiner Aminosäurestickstoff (unter Absatz von angenommenem, hohem Puringehalt, 9 mg) noch über 50 mg, d. i. noch über dem Dreifachen der durchschnittlichen Norm oder rund 25⁰/₀ des Ges.-R-N. Aus eigenen Erfahrungen sei berichtet, daß unter 12 selbständigen Fällen der ersten Kategorie 3 eine Aufteilung des Gesamtreststickstoffs mit hart an 30⁰/₀ reinen Aminosäurestickstoffs — absolut 45, 62, 72 mg in 100 ccm — ergaben, während der Rest nur einmal 22⁰/₀ erreichte, sonst

[1]) Es sei auf den wertvollen Befund von Neuberg u. Strauß (l. c.) auch hier hingewiesen.

darunter blieb. Bei 12 selbständigen chronischen Nephritiden bleiben 4 Fälle noch über 40% (42, 42, 40%), der Rest über 20%, zumeist an 30%. Unter den absoluten Werten für reinen Aminosäurestickstoff figurieren solche von 58, 62, 47 mg und darunter in 100 ccm Blut.

Nun können wir aber auch auf weitere an Kranken gemachte Beobachtungen zurückgreifen. Material von ungünstig liegenden Skorbutfällen (3 von 9 Beobachtungen) ergaben Gesamtreststickstoffe von 98, 104, 117 mg in 100 ccm Blut; Harnstoffstickstoff von 32, 43, 54; Gesamtkreatinin von 14, 23, 31; Harnsäure von 6, 12, 9 mg in 100 ccm Blut, woraus sich der reine Aminosäurestickstoff zu etwa 60, 50, 50 mg in 100 ccm Blut, zum rd. dreifachen der Norm berechnet. Schwere Dysenterien, die der Lager-Beri-Beri[1]) verwandt waren, gaben Zahlenverhältnisse, die im ganzen ähnlich, trotz hoher Purin- und Kreatinbefunde in 11 von 46 Fällen noch einen hohen Gehalt an reinem Aminosäurestickstoff von über 50 mg in 100 ccm zeigten, bis hinauf zu 78 mg in einem schweren Falle steigend[2]). Hienach folgen — alles als Nüchternwerte behandelt — Infektionen, dann Anämien, schwere Vergiftungen verschiedener Grade, die sich gelegentlich bis zu 35 (Chromatvergiftung) und mehr erheben. Hierhin gehört eine Zahl von Bang, gewonnen an phosphorvergifteten Kaninchen, die den darin mit unsern Zahlen nicht direkt vergleichbaren Gesamtaminosäurestickstoff schließlich sich auf 62 mg erheben läßt. Material von experimentellen Phosphorintoxikationen bei gleichzeitiger Glykokollgabe an Hunden, das dem Verfasser überlassen wurde, ergab einmal den extrem hohen Wert von 180 mg reinem, 194 mg rohem Aminosäurestickstoff im Blute.

Vorstehendes Material zeigt, wie hoch auch außerhalb der enormen Verhältnissen bei Leberatrophie der Aminosäuregehalt des Blutes wachsen kann. Freilich wird man sich, was Konzentrations- und Sättigungsverhältnisse angeht, immer vor Augen halten müssen, daß die großen Differenzen in der Individualität der Aminosäuren Spielräume für einzelne Gruppierungen schaffen, die der Organismus toleriert, trotzdem eine (oder weitere) andere,

[1]) Segelschiff-Beri-Beri nach Nocht.

[2]) J. Feigl, diese Zeitschr. 77, 199, 1916; Th. Rumpel und A. V. Knack, Deutsche med. Wochenschr. 1916.

identisch im Begriff des Gesamtaminostickstoffs zusammengefaßt, unvereinbar mit seinem Bestande ist. Die Zahlen von Neuberg und Richter, denen unsere verwandt sind, ziehen sich durch die ganze Literatur als enorme Grade von Aminacidämie wie ein roter Faden, und doch ist unsere, durch Einbeziehung auch anderer Aminosäuren als der heterolytischen Abbaustoffe um rd. $40^0/_0$ im Gesamtorganismus höher anzunehmen (diese Komponenten selbst anders gruppiert als bei Neuberg und Richter). Rechnet man nun den ersten Fall von Folin (s. o.), frei von jeder Methodenkritik, in obigem Schema mit gewisser Einschränkung der Individualität der Säuren durch, so umfaßt er bereits $70^0/_0$ unseres vorhin dargestellten Wertes, während unsere chronischen Nephriten noch gut die Hälfte, die Skorbut- und Beri-Beri-Fälle eher etwas mehr zeigen. Unsere nebensächlich beforschten Fälle I und II gaben 96 und 87 mg rohen, sowie 81 und 75 m reinen (berechneten) Aminosäurestickstoff in 100 ccm Blut.

Auf die völlige Durchrechnung dieser weiteren pathologischen Befunde (erhoben unter strenger Befolgung der methodischen und klinischen Vorbedingungen) wird an dieser Stelle verzichtet.

Über das Verhalten von Kreatinin, Kreatin, Purin, Ammoniak im Blute.

Was die Kreatinin-Kreatin-Fraktion angeht, so ist neben der bereits hervorgehobenen Höhe der Einzelbefunde, die solche bei nephritischer Retention beobachteten noch übertreffen, von besonderem Interesse der Wandel in den gegenseitigen Mengenverhältnissen. Anfänglich steigt das Kreatinin schneller, um von der maximalen Höhe bis zum Exitus wieder zu sinken, während das Kreatin mit den Höchstwerten erst am Lebensende, bei gleichzeitigem Rückgange der Kreatininmenge vertreten ist. Die Beurteilung dieser Verhältnisse verlangt einmal Rücksicht auf die Inanition, da das Auftreten von gesteigerten Mengen Kreatin im Harne bei Hunger von Cathcart, Benedict und Diefendorf zuerst gefunden wurde[1]). Hierin gehört aber vor allem die dem vorliegenden Fall verwandte Ätiologie der

[1]) E. Cathcart, diese Zeitschr. 6, 130, 1907; F. B. Benedict und A. R. Diefendorf, Am. Journ. of Physiol. 18, 362, 1907.

Einschmelzung von Muskelsubstanz (Leathes, Mellanby)[1]. Außerdem greift der allgemeine Eiweißumsatz in den Zusammenhang des Kreatinstoffwechsels ein, hohe Fleischzufuhr läßt viel Kreatin, geringe wenig Kreatin neben Kreatinin im Harn auftreten[2]. Der schwierige Punkt dieser Frage ist die Rolle der Leber hinsichtlich der Umwandlung der beiden Produkte; es würde mit einer Erörterung der Frage der Harnstoffbildung in einer Reihe stehen, wollte man die Diskussion über die vermehrten Kreatinmengen und die Verschiebung in den gegenseitigen Verhältnissen der beiden Stoffe, über die gestörte Anhydrisierung eröffnen. Da alle Vorgänge — Bildung, Zerstörung, Umwandlung in beiden Richtungen — nebeneinander laufen (Gottlieb und Stangassinger, Rothmann), ist es schwierig, den Sinn der pathologischen Ablenkung aus den Zahlen herauszulesen[3]. Die Literatur erwähnt die relative Zurückdrängung des Kreatinins bei Leberschädigungen (Mellanby, Rubinato)[4], anfängliche Vermehrung des Kreatinins, später Vorherrschen des Kreatins im Harns zur Folge von Phosphorintoxikation[5]. Unsere Ergebnisse übertragen diese älteren Erörterungen über die biologischen Verhältnisse des Organs und seiner Fermente wie die Ausscheidungsformen auf das Blut und gewähren durch die zeitliche Verfolgung feineren Einblick. Sie lehren, daß auch außerhalb der echten Retentionskreatininämie eine solche Erscheinung im hohen Grade bestehen kann, zudem verknüpft mit einer Kreatinämie. Die beiden anderen Fälle I und II zeigten 13 bzw. 9 mg Kreatinin und 30 bzw. 20 mg Kreatin in 100 ccm Blut.

Eine ähnliche Erörterung in Hinsicht des Schlackenanstaues läßt sich für die Purine anstellen, bei denen die absolute Höhe der Werte für die Frage des physikalisch-chemischen Lösungszustandes — zunächst einmal rein statistisch — von Interesse ist. Wir haben versucht, Näheres hierzu aus

[1]) J. B. Leathes, Journ. of Physiol. 35, 205, 1907; E. Mellanby, ebd. 36, 447, 1908.

[2]) Nach Neubauer-Huppert 2, 650, 1910.

[3]) R. Gottlieb und R. Stangassinger, Zeitschr. f. physiol. Chem. 52, 1, 1907; 55, 322, 1908; A. Rothmann, ebd. 57, 131, 1908.

[4]) l. c.

[5]) G. Lefmann, l. c.

den Beobachtungen von S. R. Benedict über Wandlungen der „gebundenen Harnsäure" auszusagen[1]). Studien an Menschenblut ließen diese letztere anfänglich im achtfachen Betrage der freien Harnsäure erscheinen, während nach 4 Tagen in steriler Anordnung beide nahezu gleich (dem ursprünglichen Mittelwerte von 5 mg benachbart) geworden waren, d. h. es war ein beträchtlicher Teil vorher „gebundener" Harnsäure frei in Lösung gegangen und ohne hydrolytische Behandlung direkt bestimmbar. Vielleicht setzen Vorgänge dieser Art, die autolytische Zerstörungen an organisierten oder kolloiden Gebilden zur Voraussetzung haben müßten, hier intra vitam ein, wobei vielleicht auch Löslichkeitsförderungen durch angereicherte Phosphate bei der als fallend schon früher festgestellten Blutalkalaszenz mit in Betracht kommen[2]). Man darf nicht vergessen, daß Erörterungen dieser Art einstweilen nicht theoretischer Natur werden dürfen, da alle Definitionen und Werte der Purinfrage völlig unter den Begriffen der Methodologie stehen und mit diesen erst der Kritik warten, was auch für die wirklich präzisen Bestimmungsmethoden von Folin, Steinitz, Benedict wegen der Enteiweißung und Isolierung gilt, unendlich viel mehr für deren Abwandlungen mit erleichternden Voraussetzungen zutrifft[3]). Diese letzteren scheitern hinsichtlich ihrer Stichhaltigkeit an allen, über einen engen Kreis hinausgehenden besonderen Verhältnissen. In einem speziellen Versuche mit Serum aus frischem Leichenblut vom 18. Juni war das Verhältnis von Harnsäure zu Basenstickstoff 2,8 : 1.

Unter den Ammoniakwerten beansprucht die Tatsache Interesse, daß auf Verabreichung von Bicarbonat ein schleuniger und erheblicher Abfall mit späterem Aufschnellen nach Absetzung der Gaben stattfand, was sich dem Befunde von Münzer, der an Harn bei Phosphorintoxikation erhoben wurde, anpaßt, für akute gelbe Leberatrophie wie für Blut zum ersten Male versucht und erhärtet wurde[4]).

---

[1]) S. R. Benedict, Journ. of Biolog. Chem. 20, 619, 638, 1915.
[2]) F. Kraus, Zeitschr. f. Heilkunde 10, 106, 1889.
[3]) J. Feigl, diese Zeitschr. 77, 194 ff. und 200, 1916.
[4]) A. Münzer, Prag. med. Wochenschr. 1892, 34, 35.

Weitere Blutuntersuchungen.

Es wurden mit Rücksicht auf die Frage der Glucosurie Blutzuckeruntersuchungen angestellt, denen nachher methodenkritische Interessen zur Seite traten. Auf die Zahlen aus den zwei modernen Reduktionsmethoden und die Ermittlung der Restreduktion kann nur hingewiesen werden. Interessant wirkt hier die scheinbare Hyperglykämie, die durch hohe Restreduktionen hervorgerufen und ihres vorgeblichen Charakters entkleidet wird[1]. Wir weisen auf verwandte Befunde von Schumm an Skorbut, von uns an Beri-Beri und Nephritiden hin[2][3]. Das Gesamtcholesterin erfährt eine erhebliche Steigerung, wie die Zahlen aus der Methode von Authenrieth erwiesen[4].

Besonderes Interesse beanspruchten die bisher statistisch und diagnostisch wenig behandelten und ausgebeuteten methodischen Begriffe des „Lipoidphosphors“ und „säurelöslichen Phosphors“ von J. Greenwald[5]. Der eine von uns hat mit Erfolg die Methode im Dienste der näheren Charakterisierung schwerer Dysenterien mit Ernährungsstörungen verwandt[6]. Namentlich für den Kreis blutchemischer Methoden bei Nierenstörungen erdacht und empfohlen, umgreift das Verfahren weitere pathochemische Verhältnisse, wie unser Fall zeigt. Dem fällbaren säurelöslichen Anteile der Phosphorsäure wird vom Autor eine Variationsbreite von 2 bis 6 mg mit Einrechnung alimentärer Schwankungen zugewiesen. Wir fanden sie bei Nüchternentnahmen an Gesunden im großen Durchschnitt allgemein geringer. Unser vorliegender Fall bietet anfänglich gering, später ganz erheblich gesteigerte Werte, die die Tabelle zeigt. Die Tatsache beansprucht in Verbindung mit den übrigen, auf Einschmelzungsvorgänge hinweisenden Befunden an

---

[1]) J. Feigl, diese Zeitschr. 77, 210, 1916.

[2]) O. Schumm und C. Hegler, Mitt. Hbg. Staatskrankenanstalt 1918, 12, 13.

[3]) l. c.

[4]) W. Authenrieth und R. Funk, Münch. med. Wochenschr. 1918, 23 (Kolorimetrie v. Hellige).

[5]) J. Greenwald, Journ. of Biolog. Chem. 21, 29, 1915.

[6]) Th. Rumpel und A. V. Knack, Deutsche med. Wochenschr. 1916.

stickstoffhaltigen Krystalloiden erhebliches Interesse, mit diesen gleichsinnig die ätiologische Abgrenzung gegen die sonst unter Einfluß von Retentionen hervorgerufenen Anstiege in Anspruch nehmend.

Der Lipoidphosphor, von Greenwald zu 5 bis 13 mg in der Norm (enger von 7 bis 13 mg) angesetzt, sinkt langsam ab.

Methodenkritische Beobachtungen.

Fälle, wie der vorliegende, bieten ein ungemein wertvolles Material zu methodenkritischen Studien, insbesondere für den Kreis von makrochemischen wie mikrochemischen Verfahren zur Bestimmung der stickstoffhaltigen Krystalloide. Nachdem I. Bang im Verlaufe seiner Arbeiten zur Blutzuckerfrage betont hat, daß künstliche Zusätze andere Verhältnisse in reaktiver Beziehung schaffen können, haben wir bei ständig fortgeführten methodenkritischen Arbeiten zur Reststickstofffrage auf Schritt und Tritt gleiches gefunden[1]). Hier kann nur kurz darauf hingewiesen werden, daß H. Embden und H. Much mit mehreren Mitarbeitern im Dienst des dankenswerten Versuches einer Aufklärung der Reaktion von Wassermann sich der Aminosäurefrage an Hand der Ninhydrinmethodik bemächtigt haben[2]). Die Beweisversuche der Autoren gehen über den Weg der Enteiweißung und Analyse wie auch des Zusatzes gewisser Aminosäuren und bieten aus manchen Gesichtspunkten, speziell dem oben genannten, der kritischen Betrachtung Raum. Wertvoller war es, natives Material mit hohem Aminosäuregehalt verarbeiten zu können.

Unsere, hier in Kürze mitzuteilenden Studien über Enteiweißung brachten folgende Tatsachen, die auf Blut vom 14., 17., 18. Juni bezogen sind. Die Trichloressigsäuremethode von Greenwald bei adsorptiver Nachbehandlung mit Kaolin ergab 137 mg, 202 mg, 278 mg im Liter, die Eisenmethode bei geringeren (nach Schumm[3])) Verdünnungsverhältnissen 120 mg, 160 mg,

---

[1]) I. Bang, Der Blutzucker, 1913, Wiesbaden, Bergmann. J. Feigl, Vortrag, l. c.

[2]) H. Embden und H. Much, Beiträge zur Klin. d. Infektionskrankheiten und zur Immunforschung 1914.

[3]) O. Schumm und C. Hegler, l. c.

218 mg, bei doppelten (Hauptversuch) 122 mg, 182 mg, 256 mg, die Uranylfällung 132 mg, 194 mg, 276 mg, die Zinkchloridmethode von Folin 104 mg, 128 mg, 178 mg im Liter. Die Kochenteiweißungen lieferten 178, 262, 324 [Mahlo[1])] 160, 248, 304 [Hohlweg-Meyer[2])], die Alkoholfällung nach Wolf und Taylor am letzten Termin 170 und 158 mg[3]), selbstverständlich unter peinlicher Innehaltung auch aller übrigen, außerhalb der eigentlichen Enteiweißung liegenden Versuchsbedingungen (cf. Bang, Mikrobestimmungen). Das Verfahren von Maase und Zondek[4]) ergab an den drei Tagen gegen Steinitz und Benedict Ausschläge von 60 bis 140% Mehrgehalt.

Aus diesen Untersuchungen läßt sich für den speziellen Fall dartun, daß einmal die Zinkchloridmethode bedenkliche Schwächen haben kann, daß die Fehler der Hitzekoagulation gegen die in der Norm beobachteten proportional geringer werden, daß selbst die sonst so vorzügliche Eisenmethode bei gewissen Konzentrationen mit Verlusten arbeitet, die offenbar bei dem Uranylverfahren und der Trichloressigsäurebehandlung hier nicht so auffallen. Man kann schon aus diesen wenigen, in allen Teilen mit großer Genauigkeit bearbeiteten Versuchen ersehen, daß auch im Reststickstoffgebiet keine Methode mit gleicher Leistungsfähigkeit allen vorkommenden Variationen gewachsen ist. Die günstigsten Vorbedingungen verschiedenster Art vereinigen für alle Fällungsmittel und Adsorbentien die urämischen Reststickstoffe mit weit vorwaltender Harnstofffraktion, während solche mit reichem Gehalt an Purin und Kreatinin und Aminosäure Schwierigkeiten bereiten können. Wie wir inzwischen feststellten, sind diese bei dem Papierabsorptions- und Diffusionsverfahren von Bang auch bei solchen Blutarten vergleichsweise gering, die selbst bei der Eisenmethode Aufmerksamkeit in den Verdünnungen verlangen. Wie sich

---

[1]) H. Mahlo, Beiträge zur Klin. d. Infektionskrankheiten und zur Immunforschung 3, 101, 1914.

[2]) H. Hohlweg und H. Meyer, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 381, 1908.

[3]) Ch. Wolf, Journ. of Physiol. 49, 89, 1914; Chem. Centralbl. 1, 915, 1915. — A. Taylor und H. Florence, Journ. of Biol. Chem. 22, 63, 1915.

[4]) C. Maase und H. Zondek, Münch. med. Wochenschr. 62, 1110.

diese experimentell-begrifflichen Fragen im Gebiete der Reduktionswerte und des Blutzuckers geltend machen, ist bereits beschrieben worden. Versuche zur Prüfung der Harnstoffbestimmung nach Folin im Vergleich zur Xanthydrolmethode von Fosse ergaben am 1. Juni genügende Übereinstimmung, während am 17. der Fehler ein Plus von fast 50% zu gunsten der ersteren lieferte.

Schlußsätze.

In der vorstehenden Arbeit wird über Blutuntersuchungen an einem Falle von akuter gelber Leberatrophie berichtet, die während verschiedener Stadien des Krankheitsbildes angestellt worden sind.

Neben dieser zeitlichen Verfolgung der Verhältnisse sind, gleichfalls zum ersten Male, Reihenuntersuchungen über den Gesamtreststickstoff, Harnstoff und Ammoniak, Kreatinin und Kreatin, Purin und Aminosäuren ausgeführt worden. Letztere wurden einer Fraktion des reinen Aminosäurestickstoffs gegenüber der Gesamtfraktion von Bang zusammengefaßt, in selbständigen analytischen Methoden bestimmt und z. T. präparativ dargestellt. Es wurde Glykokoll in Mengen nachgewiesen, deren Bewertung einer ablehnenden Kritik der älteren Auffassung von Bergell und Blumenthal nicht im Wege steht. Die Anwesenheit von Tryptophan wurde dargetan. δ des Blutes wurde ermittelt.

Der beschriebene Fall und zwei weitere, einmalig untersuchte ergaben Zahlen für den Gesamtreststickstoff wie auch für Gesamtkreatinin, die bei summarischer Betrachtung zur Kenntnis der wirklichen Verhältnisse wie auch bei rein diagnostischen Zwecken nicht ausreichen. Diese Erwägung wird um so eher Berechtigung beanspruchen, als bisher für den weitaus größten Teil der beobachteten und beschriebenen Fälle von akuter gelber Leberatrophie parenchymatöse Nierenschädigungen angenommen werden. Unser Fall und ein weiterer wurden von Fahr frei von Veränderungen befunden, die den Typen des Morbus Brightii entsprechen und sind daher in den Einzelfragen des Reststickstoffgebietes von besonderem Interesse.

Der Vorgang der Einschmelzung von Organsubstanz umfaßt nicht nur einen Kreis von Aminosäuren bestimmter, dem heterolytischen Abbau entsprechender Individualität. Es sind

in großem Maßstabe beteiligt die Kreatininfraktion und die Purine. Mit diesen gemeinsam beim Abbau der Nucleinstoffe frei werdend, erscheinen vergleichsweise große Beträge von anorganischen Phosphaten im Blute. Gleichzeitig findet ein Rückgang im Gehalt an Phosphatiden und ein Anwachsen des Cholesterins statt.

Der Ammoniakgehalt des Blutes kann durch Bicarbonatgaben (per os) ganz erheblich herabgedrückt werden und schnellt alsbald wieder hinauf.

Die Zusammenfassung unserer Ergebnisse gibt von den gewaltigen Umstimmungen im Stickstoffhaushalt ein weit anschaulicheres Bild, als es die bisherigen Untersuchungen vermochten. Die von Neuberg und Richter an Hand ihrer Befunde über Tyrosin, Leucin, Lysin zuerst rechnerisch durchgeführte Darlegung über die Quellen der kreisenden Abbauprodukte wird durch unsere Beobachtungen bestätigt und besonders an den Fraktionen der Purine und Kreatinine weiter erhärtet; namentlich wird auf die Muskelsubstanz hingewiesen.

In pathologischer und klinischer Hinsicht lehren die Befunde über Reststickstoff, Aminosäuren, Purine, Kreatinin und Kreatin, die annähernd parallel an drei verschiedenen letalen Fällen erhoben wurden, daß, so typisch auch die Umsetzungen bei akuter gelber Leberatrophie den Stickstoffbestand des Organismus erfassen, quantitativ ganz erhebliche Abweichungen vorkommen. Die Einschmelzung von Organsubstanz kann sich nach Art und Umfang verschieden intensiv darstellen und im letalen Stadium mit örtlich und graduell differenten Wirkungen abschließen.

Diagnostisch verwertbar erweist sich anscheinend die Aufteilung des Gesamtreststickstoffs, wie unsere Reihenuntersuchung zeigt. Auch bei einem später geheilten Falle, der mit hoher Wahrscheinlichkeit als akute gelbe Leberatrophie zu gelten hatte, trafen diese Verhältnisse zu. In der kritischen Zeit ergab sich ein Gesamtrest-N von 71 mg mit 50 mg „summarischem“ und 42 mg „reinem“ Aminosäure-N, 7 mg Purin, 5 mg Kreatinin, 12 mg Kreatin, nach der Heilung parallel 30 mg mit 18 bzw. 14 mg, 4, 1,5 bzw. 6 mg.

Im Interesse der Kasuistik und Kritik einer vergleichenden Pathologie des Vorkommens von Aminosäuren im Blute

wurden Ergebnisse eigener Arbeiten über Nephritiden usw. aufgeführt und in Beziehung zu Befunden von Folin mit den Verhältnissen bei akuter gelber Leberatrophie verglichen.

Blut und Serum des Falles boten ihrer Artung nach wertvolles Material zu methoden-kritischen Studien im Gebiete der Reduktionswerte des Blutzuckers sowie des Reststickstoffs und seiner Komponenten.

Angesichts der Feststellungen über die Zusammensetzung des Blutes an dem anatomisch näher charakterisierten Falle wurden ausgreifendere Urinuntersuchungen und abschnittsweise Bilanzversuche für notwendig zur Schaffung paralleler Befunde wie für förderlich zur Kasuistik der akuten gelben Leberatrophie erachtet. Über diese wird anschließend berichtet.

Über den Katalasegehalt des Blutes bei den sogenannten Pseudoanämien.

Von

B. Brahn und **H. Hirschfeld.**

(Aus dem Institut für Krebsforschung an der Kgl. Charité zu Berlin.)

(Eingegangen am 1. Dezember 1916.)

Die Fähigkeit des Blutes, Wasserstoffsuperoxyd zu zersetzen, beruht auf seinem Gehalt an einem Ferment, das als Katalase bezeichnet wird. Auch die meisten anderen Organe enthalten Katalase, doch in weit geringerer Menge als das Blut.

Die bisher vorliegenden Untersuchungen über den Katalasegehalt des Blutes unter normalen und krankhaften Bedingungen nahmen an, daß derselbe im wesentlichen dem Hämoglobingehalt und der Zahl der roten Blutkörperchen parallel geht, also bei anämischen Zuständen entsprechend dem Grade der Anämie eine Verringerung zeigt.

Gelegentlich von Katalasebestimmungen im Blute mit Hilfe einer von W. Loeb angegebenen gasvolumetrischen Methode war es dem einen von uns (Hirschfeld) schon vor Jahren aufgefallen, daß das Blut einiger Patienten mit normalen Werten für Hämoglobin und Erythrocyten auffallend niedrige Zahlen für die Katalasenmenge ergab. Es handelte sich um Fälle, die den Symptomenkomplex „Anämie — Neurasthenie" darboten, im wesentlichen über außerordentlich große Müdigkeit und Hinfälligkeit klagten, wie eine Blutuntersuchung ergab, aber gar nicht anämisch waren, sondern nur so aussahen (Pseudoanämien). Aus äußeren Gründen konnten die damaligen Versuche nicht fortgesetzt werden.

Die damals allerdings nur in ganz wenigen Fällen festgestellte Tatsache, daß Pseudoanämien mit den typischen subjektiven Beschwerden der Anämien, also Müdigkeit, Mattigkeit, Kopfschmerzen, Herzklopfen schon bei leichten Anstrengungen usw., ohne nachweisbare Organveränderungen und normalem morphologischen Verhalten des Blutes, doch ein chemisches Defizit in

ihrem Blute aufwiesen in Form einer Verarmung an einem bestimmten Ferment, der Katalase, veranlaßte uns jetzt, diese Untersuchungen von neuem aufzunehmen. Eine Bestätigung der damaligen Befunde, an einem größeren Materiale durchgeführt, mußte theoretisch wie praktisch gleich interessant und wichtig sein.

Die von uns angewandte Methode zur Bestimmung des Katalasegehaltes des Blutes war folgende:

Aus der Fingerbeere oder dem Ohrläppchen wurden 0,05 ccm Blut mit einer Pipette angesaugt und in 50 ccm Wasser aufgelöst. Die Lösung wurde mit 60 ccm einer Wasserstoffsuperoxydlösung von Kahlbaum versetzt, von der 1 ccm 13,5 ccm $^{n}/_{10}$-Natriumthiosulfatlösung verbrauchte. Die Wasserstoffsuperoxydlösung wurde im Laufe der Untersuchung wiederholt geprüft und die Resultate entsprechend dem allmählichen Absinken des H_2O_2-Gehaltes umgerechnet. Die Mischung blieb bei einer möglichst gleichmäßigen Temperatur von ca. 15° eine halbe Stunde lang ruhig stehen. Dann wurde sie mit verdünnter Schwefelsäure und Jodkaliumlösung versetzt und verschlossen noch eine halbe Stunde stehen gelassen. Darauf wurde die Menge des ausgeschiedenen Jods, die der des unzersetzten Wasserstoffsuperoxyds entspricht, mit $^{n}/_{10}$-Natriumthiosulfat zurücktitriert. Die höchste Zahl des zersetzten Wasserstoffsuperoxyds bei obigen Bedingungen betrug 49,2 ccm. Diese Zahl wurde in der folgenden Tabelle als 100 eingesetzt und die andern auf sie umgerechnet.

I.

Zunächst wurde der Katalasegehalt bei 5 ganz gesunden Personen bestimmt.

Fall	1.	Student der Medizin	100,0
„	2.	Krankenwärter	90,1
„	3.	Laborantin	87,2
„	4.	Krankenwärterin	86,4
„	5.	Laboratoriumsdiener	89,1

II.

Diese Gruppe betrifft Patienten mit gutem ungestörtem Allgemeinbefinden, die wegen leichterer Beschwerden in ärztliche Behandlung getreten waren.

Fall 1. Junger Mann mit nervösen Kopfschmerzen . . 92,0
Hb. 100 %.

„ 2. 53 jähriger Mann mit Ischias 91,7
Hb. 100 %.

„ 3. 52 jähriger Mann mit Resten eines vor 3/4 Jahren erlittenen Schlaganfalles 82,1
Hb. 95 %. Erythr. 4 900 000.

„ 4. 20 jähriges jung. Mädchen mit Intercostalneuralgie 81,1
Hb. 90 %. Erythr. 4 400 000.

„ 5. 30 jährige Frau mit Mitralinsuffizienz 84,2
Hb. 85 %. Erythr. 4 400 000.

III.

Diese Gruppe umfaßt 4 Fälle von Carcinom.

Fall 1. 54 jähriger Mann mit Pyloruscarcinom 80,0
Hb. 70 %. Erythr. 3 800 000.

„ 2. 56 jähriger Mann mit Koloncarcinom 74,1
Hb. 75 %. Erythr. 3 850 000.

„ 3. 44 jähriger Mann mit vorgeschrittenem Zungencarcinom 69,7
Hb. 80 %. Erythr. 3 900 000.

„ 4. 52 jähriger Mann mit Cancroid an der Nase . . 71,4
Hb. 75 %. Erythr. 3 700 000.

IV.

Diese Gruppe enthält ausschließlich Patienten, bei denen man auf Grund ihrer Klagen und ihres blassen Aussehens die Diagnose „Anämie — Neurasthenie“ stellen mußte. Das Blut verhielt sich aber morphologisch ganz normal, und der tiefste festgestellte Hämoglobingehalt nach Sahli war 80 %, eine für Frauen an der unteren Grenze des Normalen liegende Zahl. Das gleiche gilt für die tiefste Erythrocytenzahl 4 200 000.

Fall 1. 40 jährige Frau 86,8
Hb. 90 %. Erythr. 4 450 000.

„ 2. 41 jähriger Mann 89,1
Hb. 95 %. Erythr. 4 800 000.

„ 3. 56 jähriger Mann 84,5
Hb. 85 %. Erythr. 4 400 000.

Fall 4. 37 jährige Frau 83,0
Hb. 85 $^0/_0$. Erythr. 4530000.

" 5. Basedowoid? 81,3
Hb. 85 $^0/_0$. Erythr. 4320000.

" 6. 33 jährige Frau 81,5
Hb. 85 $^0/_0$. Erythr. 4520000.

" 7. 38 jährige Frau 81,0
Hb. 80 $^0/_0$. Erythr. 4300000.

" 8. 44 jährige Frau 80,2
Hb. 90 $^0/_0$. Erythr. 4700000.

" 9. 25 jährige Frau 80,1
Hb. 90 $^0/_0$. Erythr. 4440000.

" 10. Tuberkulose? 32 jährige Frau . 80,1
Hb. 80 $^0/_0$. Erythr. 4310000.

" 11. 27 jährige Frau 79,5
Hb. 90 $^0/_0$. Erythr. 4700000.

" 12. Basedowoid? 78,0
Hb. 90 $^0/_0$. Erythr. 4530000.

" 13. 49 jährige Frau 76,2
Hb. 80 $^0/_0$. Erythr. 4200000.

" 14. 43 jährige Frau 76,4
Hb. 85 $^0/_0$. Erythr. 4300000.

" 15. 27 jährige Frau 76,2
Hb. 90 $^0/_0$.

" 16. 30 jährige Frau 75,5
Hb. 90 $^0/_0$.

" 17. 39 jährige Frau 74,8
Hb. 85 $^0/_0$. Erythr. 4560000.

" 18. 45 jährige Frau 74,9
Hb. 85 $^0/_0$. Erythr. 4380000.

" 19. 25 jährige Frau 74,7
Hb. 80 $^0/_0$. Erythr. 4250000.

" 20. 31 jährige Frau 74,5
Hb. 85 $^0/_0$. Erythr. 4490000.

" 21. 29 jährige Frau 74,2
Hb. 80 $^0/_0$. Erythr. 4080000.

" 22. 31 jährige Frau 73,5
Hb. 80 $^0/_0$. Erythr. 4315000.

" 23. 22 jährige Frau 72,6
Hb. 85 $^0/_0$. Erythr. 4400000.

Fall 24. 34 jährige Frau 71,8
Hb. 90 %. Erythr. 4650000.

„ 25. 24 jährige Frau 71,9
Hb. 90 %. Erythr. 4660000.

„ 26. 54 jähriger Mann 64,2
Hb. 90 %. Erythr. 4600000.
5 Wochen später, nachdem sich der Patient erholt hat, bei demselben Blutbefund 69,2

Die in der letzten Gruppe IV aufgeführten Fälle betreffen alle Angehörige der schwer arbeitenden Klasse, fast alle sind Frauen, bei denen ja überhaupt derartige Schwächezustände häufiger angetroffen werden.

In den ersten 3 Fällen sind die Katalasewerte nicht besonders niedrig, sinken aber dann allmählich immer weiter, um im Fall 26, der einen Mann betrifft, ihren niedrigsten Wert, 64,2, zu erreichen, obwohl der Hämoglobingehalt 90 % und die Erythrocytenzahl 4600000 betragen und das Blut auch mikroskopisch, wie übrigens in allen Fällen, ganz normal war. Eine so niedrige Katalasemenge wurde nicht einmal bei den 4 untersuchten Krebsfällen gefunden, die sonst auch sehr niedrige Werte aufweisen. Ein Parallelismus zwischen Erythrocytenzahl und Hämoglobinwert zu dem Katalasewert besteht keineswegs, wie die Zusammenstellung zeigt.

Aus unseren Untersuchungen geht also hervor, daß man bei den sogenannten Pseudoanämien bei morphologisch und qualitativ normalem Blutbefund meistens auffallend niedrige Katalasemengen findet.

Ob dieser Katalasemangel in ursächlicher Beziehung zu dem klinischen Symptomenkomplex steht, oder ob er nur eine Begleiterscheinung desselben ist, läßt sich bei unserer Unkenntnis von der physiologischen Bedeutung der Katalase nicht sagen.

Wir betrachten unsere Untersuchungen noch nicht als abgeschlossen und können daher auch noch nicht sagen, in welchem Prozentsatz der Fälle von Pseudoanämie mit den geschilderten Symptomen ein Katalasemangel nachweisbar ist. Für einen sehr großen Teil dieser Fälle aber dürften unsere Befunde zutreffen.

Neue Untersuchungen über akute gelbe Leberatrophie.

II.

Harnanalyse und Bilanzversuche.

Von

Joh. Feigl und H. Luce.

(Aus dem Chem. Laboratorium und der dritten Inneren Abteilung des Allgem. Krankenhauses Hamburg-Barmbeck.)

(Eingegangen am 1. Dezember 1916.)

Einleitung.

In der vorstehenden Arbeit wurde über Reihenuntersuchungen an dem Blute eines Falles von akuter gelber Leberatrophie berichtet, wobei sich die Entwicklung der Vorgänge im Stickstoffumsatz zusammenhängend darstellte. Zum ersten Male wurden hierin unter dem Begriff des Gesamtreststickstoffs Harnstoff, Aminosäuren, Purin, Kreatinin und Kreatin, Ammoniak zusammengefaßt und die Reduktionsgrößen, Cholesterin und die Lipoidwerte fortlaufend bestimmt. Abgesehen davon, daß dieser Fall unter dem Gesichtspunkte der Aminacidämie sich, als dem klassischen von Neuberg und Richter nahestehend gleichermaßen wohl als Extrem darstellt, hat er Bedeutung im Rahmen der bisherigen Statistik durch den von Fahr anatomisch sichergestellten Befund des Fehlens einer Nierenschädigung (nach Bright) bei gleichzeitigem Ausbleiben eines Anstaues von Harnstoff. Somit fällt die lückenlose zeitliche Durchforschung zunächst mit der erstmaligen Aufnahme weiterer chemischer Gesichtspunkte für die Zusammensetzung des Blutes hinsichtlich der Krystalloide, ferner auch mit dem bisher fast nie einwandfrei beobachteten und genau definierten Zustande einer in der Frage der Sekretion harnfähiger Stoffe, gemessen am Harnstoff, gesunden Niere zusammen.

Daher wurde es aus Gesichtspunkten des Vergleichs mit den bisher vorliegenden und anerkannten Tatsachen für notwendig erachtet, Urinuntersuchungen anzustellen. Solche sollten einmal zur Prüfung älterer Befunde an einem derartigen Falle dienen, aber auch weiteres deskriptives Material schaffen besonders über die Stickstoffverteilung des Harns. Hier galt es, Gesamtpurin und Harnsäure, Kreatinin und Kreatin, Aminosäurestickstoff, Ammoniak für sich wie in gegenseitiger Beziehung, aber auch Zucker und reduzierende Substanz, Acetonkörper, Acidität, Phosphorsäure, weitere Befunde über Salze und endlich über Farbstoffe und Chromogene zu schaffen.

Vor allem sollten aber die Bilanzversuche über verschiedene Abschnitte der Krankheit ausgedehnt werden.

Die Frage des pathologisch gesteigerten Eiweißumsatzes bei der akuten gelben Leberatrophie, für dessen Bestehen jedenfalls die bisherigen Arbeiten sprechen, steht unter zwei Gesichtspunkten zur Diskussion. Einmal handelt es sich darum, ob die Rolle der Leber in der Verwertung der ihr normalerweise mit dem Pfortaderblute zugeführten Eiweißspaltprodukte eine Störung erfährt. Wenn eine solche eingeräumt wird, ist Art und Umfang derselben zu definieren. In zweiter Linie wird der Stickstoffhaushalt bestimmt von den heterolytischen Abbauvorgängen im Organismus, unter deren Einfluß zunächst die Lebersubstanz fortschmilzt. Daß Quellen der Spaltstücke ferner die Muskeln und der Darm sind, wissen wir durch die überschlagsweise Durchrechnung, die Neuberg und Richter an Hand ihrer Zahlen gaben. Eben diese Autoren haben die Frage nach der Herkunft der Aminosäuren aus dem Blute ventiliert und diese Möglichkeit eingeengt. Weiteres Material zu diesen Fragen liefern unsere Befunde über Auftreten und relative Mengenverhältnisse von Kreatin und Kreatinin im Blute, die eine Verknüpfung mit dem Muskelplasma als Ursprungsort und mit der Leber als Umwandlungsstätte zulassen. Zu diesen kommen die Beobachtungen über Gehalt des Blutes an Purin und Phosphorsäure.

Die in der vorhergehenden Publikation behandelten Arbeiten über den Aminostickstoff im Harn Leberkranker lehren jedoch, daß eine Schwächung der Desamidierungskraft vorkommen muß. Eine solche bezieht sich auf die mit der Nah-

rung zugeführten Eiweißkörper und erst recht auf die losgelösten Abbauprodukte des heterolytischen Organzerfalls.

Zur Klärung der Verhältnisse des Gesamtstickstoffhaushalts lassen sich nur wenige Beobachtungen aus den in der Literatur niedergelegten Forschungen verwerten. Wenn auf Beantwortung dieser Frage gerichtete Untersuchungen mit namhaften, oft unüberwindlichen Schwierigkeiten zu kämpfen haben, so liegt das daran, daß die Veranlagung von Stoffwechselversuchen besonders bei schweren Fällen in fortgeschrittenen Stadien mit der sonst als unbedingt nötig angestrebten Präzision oft nicht durchführbar ist. Somit wird zwar einerseits gerade für die entscheidenden Abschnitte im Verlauf des Krankheitsprozesses das Studium erschwert; andererseits sind aber in der Mehrzahl der Versuchsperioden die diesbezüglichen Ausschläge in den Ergebnissen groß genug, um die bei weniger extrem gearteten Aufgaben durchaus störenden Fehlerquellen selbst mit Rücksicht auf die Inanition zu überwiegen. Umber bezeichnet als einwandfrei in diesem Sinne einen Befund von P. F. Richter, der sich auf Untersuchungen während der letzten 14 Lebenstage eines Krankheitsfalles erstreckt, bei dem nur noch flüssige Nahrung (Milch) gereicht werden konnte[1]). Trotz großer Schwierigkeiten konnte hier die Stickstoffeinfuhr ungefähr kontrolliert werden; sie betrug durchschnittlich pro die 3,5 g N. Die Zahlen für die Stickstoffausfuhr im Urin bei diesem Stoffwechselversuch betrugen in den drei letzten Tagen 10, 11 und 8,3 g und beweisen, daß es sich hier um einen Zerfall von Körpereiweiß mit enorm gesteigerter Stickstoffausfuhr gehandelt haben muß, auch wenn man die Höhe derselben als durch den Hunger mit beeinflußt berücksichtigt. Unter Leitung von Umber ausgeführte Untersuchungen brachten eine Bestätigung dieser Befunde, indem die einschlägige Arbeit von Bürger mit gleichsinnig zu verwertenden Resultaten abschloß[2]). Aus dieser Beobachtung geht also ebenfalls ein ausgesprochener (toxischer) Eiweißzerfall hervor. Man kann aus den Angaben der Versuchsreihe erkennen, daß die Stickstoffausfuhr quantitativ zunimmt, trotzdem die Diurese und damit auch die Ausschwemmungsbedingungen sich von Tag zu Tag verschlechtern.

---

[1]) P. F. Richter, Berl. klin. Wochenschr. 21, 453, 1896.

[2]) F. Umber, l. c.

Für die nähere Bewertung der pathologischen Ablenkung des Gesamtstickstoffumsatzes sind die bereits von Frerichs sowie Schultzen und Rieß mitgeteilten, später fortgeführten Beobachtungen über die relative Zurückdrängung des Harnstoffs im Urin von großer Bedeutung. Frerichs erörterte die Frage des Zurückgehens der Harnstoffausfuhr und ließ es offen, ob hierfür das Unvermögen der Leber, weiterhin die Harnstoffsynthese im gewohnten Umfange auszuführen, ursächlich sei, oder ob die Verminderung des Harnstoffs im Urin lediglich eine Konsequenz der Retention durch die steigend hervortretende Nierensuffizienz sei. Diese letztere Annahme würde eine Selektion mit quantitativen Unterschieden in der Retention mit zur Voraussetzung haben, wobei der Anstau der eigentlichen Endprodukte des Eiweißstoffwechsels unverhältnismäßig überwiegen würde. Tatsächlich muß mit der Möglichkeit derartig differenter Funktionen in einigem Umfange gerechnet werden, wie gerade neuere Arbeiten lehren.

Umber faßt die Gesamtheit der in der Literatur niedergelegten Beobachtungen — unter denen allerdings derartig niedrige relative Harnstoffmengen später kaum wieder aufgeführt worden sind — in dem Sinne zusammen, daß im Gegenteil durch einwandfreie Stoffwechseluntersuchungen, die sich nicht nur auf einen oder wenige Beobachtungstage erstreckten, nachgewiesen worden sei, daß bei der akuten gelben Leberatrophie der Harnstoff-N-Anteil des Urins sich innerhalb normaler Grenzen zu bewegen pflege, höchstens erst post mortem prozentisch etwas absinke[1]).

So fand z. B. Rosenheim[2]) 81,1 % des Gesamt-N als Harnstoff-N, v. Noorden[3]) 75,4 resp. 71 %, Münzer[4]) freilich 52,4 %, P. F. Richter[5]) 84,7 bis 75 %, ausgenommen an den beiden

[1]) Zusammenstellung über Untersuchungen zur Frage der Stickstoffverteilung im Harn in Neubauer-Huppert, Analyse des Harns, 496 ff., 1910.

[2]) O. Rosenheim, Zeitschr. f. klin. Med. 15. 441, 1888.

[3]) C. v. Noorden, Lehrb. d. Pathol. d. Stoffwechsels, 1. Aufl., 292, 1893.

[4]) Münzer, Prag. med. Wochenschr. 34, 35.

[5]) P. F. Richter, l. c.

letzten Tagen ante exitum. Neuberg und Richter[1]) nannten 77,6°/₀ und 76,3°/₀. Sjöquist[2]) fand für Phosphorvergiftung 56°/₀ und 60°/₀ Harnstoff. Erst weitere Untersuchungen, in deren Ergebnissen auch zahlenmäßig absolut und relativ die übrigen Träger des gesamten Harnstickstoffs erscheinen, können unsere Vorstellungen erweitern und vereinheitlichen. Es geht aber immerhin schon aus diesen Befunden hervor, daß also auch bei hochgradiger Degeneration des Leberparenchyms eine nennenswerte Störung in der Harnstoffbildung, gemessen an der Ausfuhr, keineswegs nachweisbar zu sein braucht.

Als Seitenstück zu der gestörten Harnstoffbildung ist die von verschiedenen Forschern untersuchte Ammoniakausfuhr mit herangezogen worden. Unter den einschlägigen Befunden über den relativen Ammoniakgehalt steht hinsichtlich der Höhe eine Beobachtung von Münzer[3]) obenan, wonach 37°/₀ des Gesamt-N als Ammoniak-N vorlagen. Es folgen in der Zusammenstellung von Umber die als zuverlässig bewerteten Zahlen von Soetbeer[4]), sie liegen zwischen 12,7°/₀ und 8,5°/₀, ferner die von Neuberg und Richter mit 15,3°/₀ und 15,4°/₀.

Die eigenen Beobachtungen an dem bereits oben gestreiften Falle Umbers[5]) ergaben an den letzten 4 Lebenstagen 6,8, 8,5, 6,8, 0,98°/₀ Ammoniak im Gesamtstickstoff. Schultzen und Rieß, Rosenheim, v. Noorden sowie Soetbeer haben die Mehrausfuhr von Ammoniak der nachweislich vermehrten Säuremenge im Harn gegenüberstellt. Sjöquist fand bei Phosphorvergiftung einmal 27,2°/₀. Acetonkörper dagegen sind bisher offenbar nur von Soetbeer beobachtet worden. Auf experimentellem Wege hat im Rahmen des gleichen Gedankenganges Münzer den direkten Beweis dafür erbracht, daß die erhöhten Ammoniakwerte in direkter Proportionalität zu erhöhter Säurebildung im Organismus stehen. In einem Falle

---

[1]) C. Neuberg und P. F. Richter, Deutsche med. Wochenschr. **1904**, 499.

[2]) J. Sjöquist, zit. n. Neubauer-Huppert, l. c.

[3]) Münzer, l. c.

[4]) R. Soetbeer, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **50**, 294, 1903.

[5]) F. Umber in Handb. d. Inn. Med. von L. Mohr und H. Staehelin, **3**, 1, 95, 1914.

von akuter Phosphorvergiftung ging die Ammoniakbildung auf die Verabreichung von 6 g Natriumbicarbonat prompt zurück. Nach einer Formulierung von Umber ist die akute Phosphorvergiftung in gewissem Sinne als experimentelle akute gelbe Leberatrophie zu betrachten. Die Zusammenfassung aller einschlägigen Befunde und Betrachtungen zur Frage der Harnstoffbildung läßt Umber der Auffassung von Weintraud[1]) Recht geben, der zur Erklärung hervorhebt, daß eine Schädigung eines so lebenswichtigen Organs, wie es die Leber darstellt, schon vorher mit der Fortdauer des Lebens unvereinbar ist, ehe es zu einer merklichen Verminderung der Harnstoffbildung komme.

Daneben tritt aber die an dem Auftreten von intakten Aminosäuren in Blut und Harn meßbare schwere Schädigung der desamidierenden Komponente. Über die Bedeutung der Aminosäureausfuhr und den Stand dieser Frage wurde im ersten Teile berichtet. Hier ist nur anzufügen, daß auch in dem Bilanzversuche auf die Aminosäurefraktion Rücksicht genommen werden muß, wenn ein näherer Einblick in das Gefüge des Stickstoffhaushaltes gewonnen werden soll.

Methodik und Befunde der Urinuntersuchungen.

Die Urinmengen betrugen nach der Aufnahme zunächst vom 9. Mai an rund 700 ccm, dann steigend auf 700 bis 1000, vom 25. Mai bis zum Exitus hielten sie sich zumeist um 1500 bei gewöhnlichen bis mäßig erhöhten Dichten. Die anfänglich normale Verteilung der Farbstoffe und Chromogene wandte sich vorübergehend zu einer achtbaren Anreicherung von Urobilin und Urobilinogen, die jedoch bald nach Eintreten des Ikterus relativ und endlich auch absolut fast ganz zurückgedrängt wurden. Schon am 1. Juni hatte der Urin maximalen Gehalt an Bilirubin. Gleichfalls mit den derzeit besten Methoden untersucht, ließ sich gelegentlich, aber nicht dauernd und gleichgradig echte Albuminurie nachweisen, die sich oft noch über die Empfindlichkeitgrenze der Kochprobe erhob und in den feineren Proben stets beträchtlicher ausfiel. Außerdem berichtet die Zusammenfassung Umbers auch noch von einer Glykosurie, auf die wir deshalb untersuchten.

---

[1]) R. Weintraud, Wien. klin. Wochenschr. 1896, 1/2.

Drehung, Vergärung, Funktionsprüfung mit Glucose und die Benutzung der feineren reduktiven Zuckerreagentien ergaben, daß vorübergehend, aber im mittleren Stadium fast regelmäßig, Mengen von 0,3 bis 0,6 g an wirklicher Glucose ausgeschieden wurden.

Die Isolierung der krystallisierbaren Aminosäuren gelang erst vom 30. Mai an und wurde öfter wiederholt. Die Gesamtacidität des Harns, nach Folin und Moritz bestimmt, stieg anfänglich energisch bis auf weit über doppelt normale Werte in deren Bereich sie später zumeist verblieb. Die Untersuchung auf Acetonkörper ließ sich nur durch Vakuumdestillation (präformiertes Aceton), Kochung (präformiertes Aceton und solches aus Acetessigsäure), Oxydation (Oxybuttersäure) oder durch erschöpfende Extraktion im Lindschen Apparat, dann aber zweifelsfrei und sicher ausführen. Es bedurfte fast nie der extrem feinen, auch den mikrochemischen Bereich normaler Urinzusammensetzungen umgreifenden Proben von Frommer oder Scott-Wilson, oft waren die üblichen Reaktionen von Legal und Rothera positiv[1]). Im Sediment wurden selten und vereinzelt Cylinder angetroffen. Bei der Stickstoffanalyse des Harnes, dessen kolloiden Bestandteilen durch sorgfältige Vorprüfung Rechnung getragen wurde, wählten wir die Vakuumdestillation nach Krüger, Reich, Schittenhelm bzw. Spiro bzw. Sörensen zur Bestimmung des fertig gebildeten Ammoniaks und die Methoden von Mörner-Sjöquist und Folin zur Isolierung des Harnstoffs[2]). Kreatinin und Kreatin wurden nach Folin bzw. Benedict bestimmt und die Inversion nach der Autoklavenmethode bewirkt[3]). Die Formoltitration wurde nach Sörensen, die Bestimmung von Harnsäure bzw. Gesamtpurin nach Folin-Schaffer sowie Krüger

---

[1]) Schon 1914 hat Verf. in Verbindung mit Querner das analytische, später von Engfeldt ausgebaute Prinzip der Reaktion von Fabinyi und Frommer angenähert kolorimetrisch bez. coloriskopisch verwandt bei Reihenuntersuchungen an Sportsleuten und Soldaten (Gepäckmarsch, Hamburg, Mai 1914).

[2]) Siehe in Brugsch-Schittenhelm, Technik der klinischen Untersuchungsmethoden, II. Teil, 1914.

[3]) F. G. Benedict und V. C. Myers, Am. Journ. of Physiol. 18, 397, 1907; Rücksichtnahme auf Acetonkörper nach O. Folin.

und Schmidt, die Untersuchung auf Phosphorsäure nach Neumann ausgeführt[1]).

Darstellung der Ergebnisse.

Tabelle I. Stickstoffbilanzversuche.

Aufnahme, Ausscheidung und Verteilung des Stickstoffs im Urin.

Versuch 1.

Datum	N-Aufnahme	N-Ausscheidung überhaupt	N im Kot Verlust	N-Ausscheidung im Urin									
				Gesamt	Harnstoff		Ammoniak		Kreatinfraktion	Purinfraktion	Aminosäuren	
	g	g	g	g	g	%	g	%	g	g	g	%
21. Mai	8,8			9,4	7,8	83,0	0,85	9,0	0,30	0,26	0,52	5,5
22. „	8,2			8,4	6,6	78,6	0,80	9,5	0,41	0,22	0,66	7,8
23. „	5,6			9,8	7,6	79,6	0,75	7,7	0,28	0,29	0,84	8,6
24. „	10,4			8,4	6,0	71,4	0,92	10,9	0,51	0,31	1,02	12,1
25. „	9,4			10,5	7,7	73,3	0,90	8,9	0,47	0,37	0,94	8,9
In 5 Tagen insgesamt	42,4	52,7	6,2	46,5								

Bem. Angaben über Stickstoffaufnahme und Ausfuhr in g pro Tag bzw. in % vom Gesamtstickstoff des Harnes.

Tabelle II. Stickstoffbilanzversuche.

Aufnahme, Ausscheidung und Verteilung des Stickstoffs im Urin.

Versuch 2.

Datum	N-Aufnahme	N-Ausscheidung überhaupt	N im Kot Verlust	N-Ausscheidung im Urin								
				Gesamt	Harnstoff		Ammoniak		Kreatinfraktion	Purinfraktion	Aminosäuren	
	g	g	g	g	g	%	g	%	g	g	g	%
8. Juni	6,2			9,6	7,0	72,9	1,1	11,4	0,40	0,42	1,1	11,4
9. „	4,0			10,3	7,1	68,9	1,2	11,6	0,50	0,62	1,2	11,6
10. „	3,8			10,8	7,5	69,4	0,9	8,3	0,55	0,62	1,0	9,3
11. „	2,0			12,0	8,6	71,7	0,4	3,3	0,60	0,72	1,9	15,8
12. „	4,0			14,2	10.1	71,7	0,6	4,2	0,80	0,60	2,2	15,5
In 5 Tagen insgesamt	20,0	61,6	4,7	56,9								

Bem. Angaben über Stickstoffaufnahme und Ausfuhr in g pro Tag bzw. in % vom Gesamtstickstoff des Harnes.

[1]) Wie in [1]).

Bilanzversuche.

Der erste Bilanzversvuch auf Tabelle I lehrt, daß in 5 Tagen 42,4 g Stickstoff eingeführt und 46,5 g im Harn ausgeschieden wurden. Der gleichzeitige Verlust im Kote erreicht mit fast 15 $^0/_0$ einen Betrag, der den für die gegebene Probekost allgemein angenommenen in etwa übersteigt. Im Harn wurden 4,1 g verloren, eine Zahl, die angesichts der nicht durchführbaren Ausschwemmung „vorübergehend“ retinierten Stickstoffs in dem Sinne zu kritisieren wäre, daß der tatsächliche Wert höher gewesen seih könnte.

Der zweite Bilanzversuch (Tab. II) zeigt, daß 20,0 g Stickstoff eingeführt wurden, von denen im Kote fast ein Viertel verloren ging; mithin wurde auch hier die übliche Grenze ganz erheblich überschritten. Die Gesamtstickstoffausfuhr im Harn betrug 56,9 g und somit nahezu das Dreifache der Einfuhr. Beide waren als Dauerversuche gedacht; sie mußten aus klinischen Rücksichten vor der Zeit abgebrochen werden. Die 5 Tage jedes einzelnen sind nach breit bemessenen Vorperioden stichhaltig durchgeführt. Im ersten bestand die Kost aus Schabefleisch, Butter, Milch, Weißbrot, Eiern, Fruchtgerichten, leichten Gemüsen; im zweiten aus Eiern, Milch, Weißbrot, leichten Milchgerichten mit Cerealien.

Es folgen nunmehr die Zahlen aus den letzten Lebenstagen bei ungenügender Ernährung und völliger Inanition. In den letzten drei Tagen stieg der Gesamtstickstoff des Harnes weiter auf 12, 11, 12 g am Tage.

Stickstoffverteilung.

Was nun die Zusammensetzung der Stickstoffausfuhr angeht, so umfassen die Bilanzversuche nach den Tabellen und die übrigen Untersuchungsfristen die folgenden täglichen Befunde. Der Harnstoffanteil, vom 12. bis 20. Mai noch um 80 $^0/_0$ schwankend (zumeist darüber liegend), sinkt im ersten Bilanzversuch auf unter 75 $^0/_0$, einmal 71 $^0/_0$ erreichend. In der ersten Juniwoche hielten sich die Werte zumeist um 75 $^0/_0$; sie sinken dann auf 70 $^0/_0$ und darunter ab und erreichen schließlich in der letzten Lebenswoche Werte um 65 $^0/_0$, einmal unter 60 $^0/_0$ fallend.

Der Ammoniakgehalt, in Prozenten des Gesamtstickstoffes, steigt bis zum 21. Mai über 6,7 auf 9,0, bleibt weiter-

hin mit Schwankungen zwischen 8 bis 11,6, fällt auf die an 3 Tagen verabreichte Gabe von insgesamt 12,0 g Natriumbicarbonat auf 8,3, 3,3, 4,2, schnellt hernach wieder auf 12,0 und erreicht in den letzten Lebenstagen 14 und 15.

Was nun die Purinfraktion angeht, so blieb sie in der Zeit bis 21. Mai bei gemischter Ernährung mit rd. 0,25 bis 0,3 g N und mit 0,75 bis rd. 1,0 g Harnsäure und rd. 0,1 g Purinbasen ziemlich konstant. Dann stieg der Gesamtstickstoff der Purinfraktion auf schließlich 0,37 g und der Gehalt an Harnsäure auf 1,2 g. Nach dem 29. Mai wurde annähernd purinfrei ernährt, wobei der Stickstoff dieser Fraktion trotzdem nicht wieder unter 0,3 g fiel und die Harnsäure sich auf rd. 1,0 g hielt. Später stieg die Basenfraktion an; nachdem sie sich früher zumeist an 10% der Gesamtfraktion gehalten hatte, erreichte sie schließlich 20% und kurz vor dem Tode 22% dieses Betrages. Im zweiten Stoffwechselversuch liegen die N-Werte der Purinfraktion um 0,6 g mit bereits von 1,3 bis 1,8 g Harnsäure und entsprechend hohem Basenanteil. Die absolut höchsten Harnsäurewerte fallen auf die letzten Lebenstage, 2,1 und 2,2 g und dazu 0,41 und 0,44 g Basen.

Nunmehr folgt die Kreatininfraktion, die anfänglich bei gemischter, später bei kreatinin- bzw. kreatinarmer Kost untersucht wurde. Anfänglich wurden Werte um 1,0 g beobachtet. Im ersten Stoffwechselversuche finden sich Werte von 1,0 bis 1,5 g Kreatinin mit Mengen an Kreatin, die vordem unter 0,1 g, hierin jedoch mit bis 0,16 g enthalten sind. Später sank der Kreatingehalt bis zum 3. Juni wieder unter diese Werte bei gleichzeitigem Anwachsen des Kreatiningehalts auf 0,15 bis 0,20 pro Tag. Dann traten Kreatinmengen auf, die bis zum Tode anstiegen, am 12. Juni schon 0,1 g, am 13., 14., 15., 16. mit 0,88, 1,24, 2,8 und 2,2 g vertreten sind. Die Kreatininmengen waren mit 2,0 g im Maximum vertreten und sanken schließlich auf 0,85 g ab, beim Exitus jedoch wieder 1,0 g betragend.

Die Aminosäureausfuhr wurde zuerst in der zweiten Maiwoche mehrfach mit 214, 247, 218 mg N pro Tag beobachtet; in der Zeit des ersten Stoffwechselversuches figuriert diese Fraktion mit 0,52 g bis 1,02 g pro Tag oder 5,5 bis 12% des Gesamtstickstoffs. Später werden Werte um 1,0 g, entsprechend über 10% des Gesamtaminostickstoffs, weiterhin solche bis zu 15,5% be-

obachtet, die nach dem 12. Juni bis zum Tode auf 12% sanken.

Prparativ-analytisch wurde zwecks Isolierung speziell des Glykokolls untersucht. Je 1 l Harn aus verschiedenen Abschnitten der Krankheit am 17., 25. Mai und 12. Juni, ergänzt aus den benachbarten Tagen bei Frischhaltung mit Toluol, wurden in Arbeit genommen. Im Vakuum unter Zusatz von Alkohol bei 45° des Bades eingedampft, mit Beigabe von geglühtem Quarzsand völlig getrocknet, wurden die Rückstände mit Alkohol-Amylalkohol nach Lippich[1]), dann mit Äther unter Aufschütteln mit Glasperlen mehrfach extrahiert. Das ungelöste wurde mit anteilweise zugesetztem, 60° warmem Ammoniak von 5% erschöpft und erneut im Vakuum zur Trockne gebracht. Aus der mäßigen, feucht durchtränkten Krystallfraktion wurde mit eiskaltem Wasser ein Filtrat von 30 bis 50 ccm erzielt, dieses mit Alkohol (20% Beimischung) und Wasser auf 100 ccm Gesamtvolumen gebracht, darin während einer Stunde mit Blutkohle nach Bang[2]) und mit Pikrinsäure nach Folin[3]) behandelt. Das Filtrat wurde erschöpfend mit Äther extrahiert und sodann nach Erben der Acylierung unterworfen[4]). Die weitere Verarbeitung geschah in Anlehnung an die Angaben von Bingel[5]). Das ungelöste der Krystallfraktion bestand aus analytisch weiter behandeltem Tyrosin und Leucin. Ihre Menge betrug in der Untersuchung für den 25. Mai 2.5 g auf 100 ccm, für den 12. Juni 4,3 g. In der colorimetrischen Tyrosinbestimmung nach Folin[6]), die hier auf ein fast purinfreies, sicher phenolfreies Präparat angewandt wurde, entsprach die letztere einem Tyrosingehalt von 3,2 g mit 0,25 g N. In kleinstem Maßstabe nach Neuberg und Popowski[7]) behandelt, ließ sich eine Anreicherung des Trägers der Tryptophanreaktionen mit Glyoxylsäure und Brom in der aus der Fällung hervorgehenden Fraktion erzielen. Indol, Indolessigsäure und Melanogen waren auszuschließen.

[1]) F. Lippich, Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 160, 1906.
[2]) I. Bang, diese Zeitschr. 72, 1916.
[3]) O. Folin, Journ. of Biolog. Chem. 1916.
[4]) F. Erben, Zeitschr. f. physiol. Chem. 43, 320, 1904.
[5]) A. Bingel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 52, 1908.
[6]) O. Folin, Journ. of Biolog. Chem. 22, 327, 1915.
[7]) C. Neuberg und T. Popowski, diese Zeitschr. 2, 1906.

Aus der nach Bingel weiter analysierten Portion ließ sich, mit Äther, Alkohol und Wasser mehrfach gereinigt, 3,0 g reines Naphthalinsulfoglycin von F. P. 152° gewinnen, nachdem das Rohprodukt 5,7 g betragen hatte mit dem F. P. 117°. Diesen 3,0 g würden rd. 1,0 g Glykokoll mit rd. 0,20 g Stickstoff entsprechen (25. Mai). Für den 12. Juni entsprechen diesen die folgenden Zahlen: 4,7 g Rohprodukt, 3,6 g Reinprodukt, 1,45 g Glykokoll, 0,3 g Stickstoff.

Nehmen wir nun an, daß in präparativen Verhältnissen bei Anwendung reiner Substanzen die Ausbeute an 85%, in den analytischen Methoden von Ignatowski, Erben, Embden 50 bis 80% beträgt[1]), daß hier durch die nötige Reinisolierung an 60% verloren gingen, so ist die wirkliche Menge wahrscheinlich mindestens zum doppelten Betrage anzusetzen, d. h. mit rd. 0,5 g Glykokollstickstoff zu beziffern. Eine Isolierung nach diesem Gange mit dem Ziele der Gewinnung analysenreiner Substanz gelang an den ersten Tagen nicht. Die Ursachen für Erfolg und Mißerfolg müssen in den gegenseitigen Mengenverhältnissen derjenigen leicht löslichen, niedrigmolekularen Aminosäuren liegen, die im Filtrat der schwer löslichen hinterbleiben. Aus dem Schmelzpunkte des Rohproduktes, der im letzten Fall viel höher als in den früheren lag, ist zu ersehen, daß dort eine Beimengung z. B. etwa von Alanin nicht unerheblich gewesen sein kann.

Analyse des Naphthalinsulfoglycins.

$C_{10}H_7SO_2NHCOOH$, 265

Ber.	C 54,34	H 4,15	N 5,28
Gef.	C 54,48	H 4,35	N 5,30

0,2781 g — 0,4358 g CO_2 und 0,1070 g H_2O

0,3005 g — 14,4 ccm N (19°; 752 ccm Hg).

Die Phosphorsäure des Harns wurde anfänglich mit Werten um 2,0 bis 2,2 g P_2O_5 pro Tag ausgeschieden; sie stieg im ersten Bilanzversuche auf insgesamt (für 5 Tage) 14,8 g, später um Mitte Juni ist sie mit 3,7 und 4,2 g, im zweiten Stoffwechselversuch mit insgesamt 23,2 g vertreten, was Werten entspricht, die pro Tag 4,5 bis 4,9 g betragen und die sich einmal auf 6,6 g (15. Juni) steigerten.

[1]) Neubauer-Huppert 1, 641.

Die Kalkausfuhr war im ersten Stadium mit Zahlen von 0,24 bis 0,28 g pro Tag vertreten, lag im ersten Bilanzversuch um 0,32 g, im zweiten um 0,45 g pro Tag und erreichte am 14. Juni mit 0,82 das Maximum.

Nicht unwesentlich scheint uns der Ausfall eines Versuches mit der Reaktion von Salomon-Saxl in Anlehnung an die Arbeit von Murachi[1]). Am 15. Juni war bei positiver Reaktion der prozentische Gehalt an Sulfatschwefel 79,0, der neutrale 16,0, der Schwefel der charakteristischen Fraktion 5 % des Gesamtschwefels. Schon vorher war die eigentliche Reaktion positiv gewesen.

Besprechung der Ergebnisse.

Was die Bilanzversuche angeht, so zeigen sie in ihrem Ausfalle beträchtliche Unterschiede, die dem Stande der Erkrankung entsprechen. Es muß an dem ersten die Kritik der aus klinischen Rücksichten unterbliebenen Ausschwemmung geübt werden. Die Methoden der Bestimmung für die Stickstoffsubstanzen sind — namentlich für die Puringruppe trifft das zu — nicht so beschaffen, daß sie eine runde Gesamtsumme ergeben können. Die Proteinsäuren wurden nicht mitbestimmt. Einschränkungen an der Stichhaltigkeit der Formoltitration bei Gegenwart von Tyrosin müssen gemacht werden.

Die Harnstoffprozente bewegen sich im Verlaufe der Krankheit abwärts, was durch das Vordringen der Mengen an den übrigen Stickstoffkomponenten verursacht ist. Die absoluten Harnstoffmengen halten sich in nahezu gleicher Höhe. Der ältere Einwand einer gestörten Harnstoffausfuhr durch nephritische Retention fällt bei unserem Falle ohne weiteres fort, wie die Reststickstoffuntersuchung des Blutes mit den geringen Harnstoffanteilen erweist.

Im zweiten Bilanzversuch überwiegen die absoluten Harnstoffmengen weitaus den Gesamtstickstoff der Nahrung unter dem Einflusse der Inanition, vielleicht vermehrt um eine teilweise Desamidierung und Harnstoffbildung aus wahllosen oder spezifischen Anteilen der abgespaltenen Aminosäuren. Die Harnstoffprozente sind zum Teil niedriger als die meisten der jün-

[1]) N. Murachi, diese Zeitschr. **41**, 138, 1912.

geren Literatur und zeigen an, daß eine oder wenige Untersuchungen zufällige Treffer bieten und die verschiedenen Fälle hohe individuelle Unterschiede zeigen können, was schon die Beträge des Gesamtreststickstoffs im Blute andeuten. In einem unserer Fälle mit einem Gesamtreststickstoff von 148 mg für 100 ccm Blut wurde parallel — 2 Tage vor dem Tode — der Harnstoffanteil zu 74% bei 11,2 g Gesamtstickstoff in der Tagesmenge ermittelt.

Die Ammoniakmengen, deren normales Durchschnittsmittel die Zahlen von Weintraud, Rumpf, Krüger und Reicher mit rd. 5% des Gesamtstickstoffs angeben, erreichen in unserem Falle relativ keine beträchtlichen Höhen, wie der Vergleich mit der fraglichen Literatur zeigt[1]). Sie gingen bei Bicarbonatgaben erheblich unter die Schwelle zurück. Bei den Werten älterer Arbeiten wird sicher hier und da eine sekundäre Vermehrung mit zu berücksichtigen sein. Die Vakuummethode durch Destillation ist nach Befunden von Schenitzky, die aus der Klinik von Münzer stammen, als die derzeit beste erneut erwiesen worden[2]).

Unter den Befunden über die Purinuntersuchungen beanspruchen Interesse die absolute Höhe und gleichwohl prozentische Zurückdrängung der bis zum Tode trotzdem erheblich ansteigenden Harnsäure.

Unser zweiter Fall hatte nur rd. 12% Basenstickstoff aufzuweisen, so daß auch hierin starke individuelle Unterschiede vorkommen müssen. Zum Vergleich können in aller Kürze die Angaben der Literatur herangezogen werden. Nach Umber[3]) ist es nicht verwunderlich, daß die endogene Quote der Harnsäureausfuhr erhöht sein kann, und Weintraud fand Bildung und Ausfuhr der Harnsäure im ganzen nicht gestört bei absolut gesteigerten Mengen[4]). Wiechowski fand am phosphorvergifteten Kaninchen die Purinausscheidung nicht verändert[5]).

Nimmt man nun nach Wiechowski die Grenzen der endogenen Harnsäureausfuhr mit 0,2 bis 0,6 g pro Tag an, die der

---

[1]) Neubauer-Huppert 1, 1910.

[2]) Schenitzky, diese Zeitschr. 78, 1916.

[3]) F. Umber, l. c.

[4]) R. Weintraud, l. c.

[5]) W. Wiechowski in Neubauer-Huppert 2, 314.

Purinausfuhr im größten Umfange zu 0,08 bis 0,25 g Stickstoff, so erheben sich unsere Werte weit darüber hinaus[1]). Näherer Einblick wird vermittelt aus der Zusammenstellung bei Vierordt[2]), in der die Versuche von Camerer genauer aufgeführt sind. Danach fällt der Harnsäurestickstoff bei purinhaltiger Ernährung für die Frau erheblich niedriger aus als für den Mann unter vergleichbaren Verhältnissen. Nach v. Noorden und Hammarsten macht der Stickstoff der Harnsäure bei Erwachsenen 1 bis 3% des Gesamtstickstoffs aus. Aus unseren Zahlenreihen berechnen sich Werte wie

2,8% bis 3,5% im ersten, wie
4,3% bis 6,0% im zweiten Bilanzversuch,

während das höchste Zahlenverhältnis unmittelbar vor dem Tode mit

6,6% und 7,3%

abschließt.

Von Burian und Schur stammen folgende Zahlen für Harnsäure und Purinstickstoff: 0,1 und 0,12 bzw. 0,14 und 0,16 bzw. 0,18 und 0,20 g in 24 Stunden mit rd. 10% bis rd. 16% Basenanteil, der also bei uns erheblich überschritten wird und zuletzt über 20% darstellt.

Die Kreatin-Kreatininfraktion ist nicht nur mit absolut hohen Werten, sondern interessanten, den Verhältnissen im Blut ersichtlich folgenden Schwankungen vertreten. Gleichwohl wurde die mehrfach genannte Höchstzahl der holländischen Forscher für Kreatin nicht erreicht.

Die Untersuchung auf Aminosäuren lehrt nach dem Ausfall der angenähert quantitativen Versuche das folgende. Unter Annahme von rd. 15% 2,2 g Aminosäurestickstoff im Gesamtstickstoff wurde auf überschlagsweise 0,5 g Glykokollstickstoff entsprechend rd. 2,5 g Substanz geschlossen. Wennschon eine Isolierung dieser Fraktion in früheren Versuchen nicht gelang und daher entweder ungünstige Vorbedingungen für die Analyse oder ein geringer Betrag von Glykokoll angenommen werden muß, so ist doch durch unseren wiederholten Befund die Annahme von Bergell und Blumenthal hinfällig geworden. Es sind nicht nur methodische

[1]) Neubauer-Huppert 2, 1005 und 912.

[2]) H. Vierordt, Daten und Tabellen, 1906, III. Aufl., Jena, 336/340. Daher sind auch die folgenden Angaben entlehnt.

Voraussetzungen für die Isolierung, sondern auch pathochemische anzuerkennen, da nicht in allen Stufen des Krankheitsverlaufes Glykokoll reichlich und relativ überwiegend gegen die nächsten Homologen gebildet zu werden resp. aus den Nahrungsproteinen hervorgehend im Harne zu erscheinen braucht.

Der Gang der Phosphorsäureausscheidung ist gleichfalls zum Tode hin beschleunigt, indem bereits die Werte des zweiten Stoffwechselversuchs, mehr noch die der letzten Tage weit über die Durchschnittsmenge hinausgehen, die für kräftige Erwachsene zu rd. 3 g pro Tag angesehen wird. Dementsprechend erhebt sich auch die Kalkausfuhr auf schließlich 0,82 g.

Schlußsätze.

In vorstehender Arbeit wurde zur Ergänzung der früher behandelten Blutuntersuchungen an einem klinisch und anatomisch charakteristischen Falle von akuter gelber Leberatrophie über chemische Harnuntersuchungen berichtet.

Diese beschäftigen sich mit der Frage der Stickstoffverteilung, mit der genaueren Verfolgung der Fraktionen der Aminosäuren, des Purins und Kreatinins, endlich mit der Phosphorsäure- und Kalkausscheidung.

Ferner wird über Bilanzversuche in zwei Abschnitten des Krankheitsverlaufes berichtet.

Da sich jedoch sowohl im Vergleich zu manchen in der jüngsten Literatur niedergelegten Beobachtungen wie zu einigen weiteren eigenen Befunden nicht unbeträchtliche Abweichungen in den Einzelfragen ergeben, muß einmal auf die großen Verschiedenheiten der Umsatzverhältnisse im Verlaufe des Krankheitsbildes hingewiesen werden.

Aus der Rücksicht hierauf erscheint es berechtigt, manche Abweichungen dadurch zu erklären, daß mit einzelnen oder kurzdauernden Untersuchungen nur bestimmte Ausschnitte getroffen und in zahlenmäßigen Befunden dargestellt werden.

An weiteren Differenzen sind, namentlich was die älteren Arbeiten angeht, methodische Ursachen mit schuld, da zweifellos in Harnen, wie die fraglichen es öfters sind, die Analyse aller Stickstoffsubstanzen auf Schwierigkeiten stößt, die sich in nicht unerheblicher Erweiterung und Summierung der Fehlerquellen einzelner Verfahren bemerkbar machen.

Endlich, und das scheint nach dem Stande der Forschung nicht mehr fraglich zu sein, können sich verschiedene Fälle pathochemisch auch an vergleichbaren Punkten des Krankheitsbildes graduell erheblich abweichend darbieten. Hierfür sprechen Befunde im Blute wie im Urin. Doch sind auch Unterschiede zu beobachten, die weiterhin bereits prinzipielle Natur vortäuschen können, indem die Einschmelzungsvorgänge sich nach den Ergebnissen analytischer Methoden durchaus abweichend in Intensität und Umfang darstellen können.

Auf eine tabellarische oder textliche Parallelbetrachtung der Blut- und Urinuntersuchungen muß vorläufig verzichtet werden, obzwar eine solche sehr förderlich wäre[1]). Diese bleibt einer klinischen Erörterung in Hinsicht auf weitere Untersuchungen vorbehalten.

Aus den Ergebnissen unserer vorliegenden Arbeit drängt sich im Vergleich zu weiter ausgreifenden Paralleluntersuchungen an sonstigen Leberleiden die Beobachtung auf, daß bis zu einem diagnostisch ziemlich scharf definierbaren Wendepunkte auch die akute gelbe Leberatrophie sich als gutartig darzubieten pflegt, bis ein zumeist plötzlicher Umschwung die in kürzester Frist ablaufenden gewaltigen Einschmelzungsvorgänge einleitet und den malignen Charakter enthüllt.

An diesen Moment werden weitere Fragestellungen anknüpfen müssen.

---

[1]) Siehe z. B. bei V. C. Myers und Morris S. Fine, Journ. of Biolog. Chem. **20**, 391, 1915.

Säurevergiftung und Luftverdünnung.

Von

A. Loewy und C. Brahm.

(Aus dem Tierphysiolog. Institut der Kgl. Landwirtschaftl. Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 4. Dezember 1916.)

Der Begriff der Säurevergiftung, der ursprünglich ganz eindeutig und klar zu sein schien, ist allmählich komplizierter geworden. Dabei wurde er zugleich unklarer, insofern als die neuen Entdeckungen, die das Wesen der Säurevergiftung, insbesondere nach der physikalisch-chemischen Seite hin, klarlegten, erkennen ließen, daß es ganz auf den Standpunkt ankommt, den man dem Begriff der Säuerung gegenüber einnimmt, wie weit oder wie eng man die Grenzen der Säurevergiftung ziehen und welche Zustände man mit diesem Namen verbinden will.

Die älteste Anschauung bezeichnete als Säurevergiftung alle Zustände, bei denen unverbrennliche Säuren oder saure Salze in gegen die Norm vermehrter Menge im Körper vorhanden sind und, durch Alkali neutralisiert, zu einer Steigerung der Alkaliausfuhr durch den Harn führen. — Bekanntlich unterscheiden sich hierbei die herbivoren Tiere von den carnivoren dadurch, daß, wie zuerst Salkowski[1]) vermutete und dann Walther[2]) experimentell bestätigte, erstere im wesentlichen fixes Alkali, letztere, unter Schonung dieses, Ammoniak hergeben. Wie die Carnivoren verhält sich auch der Mensch, so daß bei diesem und den Carnivoren die Höhe der Ammoniakausscheidung ein Maß für die Menge pathologischer Säuren im Körper abgibt.

---

[1]) E. Salkowski, Über die Möglichkeit der Alkalientziehung am lebenden Tiere. Virchows Archiv 58, 1, 1873.

[2]) Walther, Unters. über die Wirkung der Säuren auf den tierischen Organismus. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 7, 148, 1877.

Einen zweiten Maßstab sollte die Menge der Kohlensäure des Blutes bieten. Von diesem Standpunkte aus würde eine nicht durch Änderungen des Atmungsmodus bewirkte Abnahme der Blutkohlensäuremenge eine Anhäufung pathologischer Säuren im Blute anzeigen.

Auf dieser Grundlage, die von der Schmiedebergschen Schule gelegt wurde, ist eine große Zahl von Untersuchungen, beginnend mit den Walthers über das Verhalten der Blutkohlensäure nach Einführung von Mineralsäuren in den Körper, ausgeführt worden.

Neuerdings ist an Stelle der Menge die Spannung der Blutkohlensäure, gemessen an der Kohlensäurespannung der Lungenalveolenluft, als Maßstab benutzt worden.

Nach den Anschauungen, die exakt zuerst Henderson[1]) begründete, kann das Blut schematisch als eine Lösung betrachtet werden, in der die Kohlensäure als H_2CO_3, $NaHCO_3$ und als Ion HCO_3 vorhanden ist, derart, daß Kohlensäure und $NaHCO_3$ sich in einem bestimmten Gleichgewicht befinden. Wird durch Säureeintritt ins Blut das Gleichgewicht infolge Bindung eines mehr oder minder großen Teiles des Alkalis gestört, so kommt es durch den zunächst bestehenden Überschuß an CO_2 bzw. an H-Ionen[2]) zu einer Steigerung der Lungenventilation, durch welche die gemäß dem herabgesetzten Alkaligehalt nun überschüssige Kohlensäuremenge entfernt wird, bis sich ein neues Gleichgewicht mit entsprechend niedriger Kohlensäuremenge und indirekt auch Kohlensäurespannung im Blute eingestellt hat.

Die Verminderung der Kohlensäurespannung sollte nun die bestehende Säureanhäufung anzeigen. Am schärfsten vertraten diesen Standpunkt Porges, Leimdörfer und Marcovici[3]), die einfach durch eine Messung der CO_2-Spannung in der Luft der nicht respirierenden Lungenalveolen Säurever-

---

[1]) L. J. Henderson, Das Gleichgewicht zwischen Basen und Säuren. Ergebn. d. Phys. v. Asher-Spiro 8, 254, 1909. Auch: Diese Zeitschr. 24, 1910.

[2]) Vgl. H. Winterstein, Die Regulierung der Atmung durch das Blut. Arch. f. d. ges. Physiol. 138, 167, 1911.

[3]) Porges, Leimdörfer, Marcovici, Über die CO_2-Spannung des Blutes in pathologischen Zuständen. Zeitschr. f. klin. Med. 73, 1910.

giftung feststellen wollten, und sie als vorhanden annahmen, wenn sie eine Abnahme der CO_2-Spannung fanden.

Aber die auf diesem einfachen Wege gewonnenen Ergebnisse sind nicht eindeutig, so daß ein zutreffender Schluß auf Änderungen der Alkalescenzverhältnisse des Blutes aus ihnen nicht gezogen werden kann. Veränderungen der Zirkulationsgeschwindigkeit und des Respirationsmodus sind imstande, ihren normalen Wert zu verändern, ohne daß aus pathologischen Stoffwechselprozessen herrührende saure Valenzen in das Blut eingetreten zu sein brauchen.

Was insbesondere den Einfluß der Respiration anlangt, so ist davon auszugehen, daß die Annahme, daß man, wie in der Norm so auch bei pathologischen Zuständen, aus der Spannung der Blutkohlensäure auf den Alkaligehalt des Blutes schließen kann, nur zulässig ist unter der Voraussetzung, daß das Verhältnis von $CO_2 : NaHCO_3$, also die $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration, ungeändert geblieben ist. Einerseits kann sich diese aber ändern, ohne daß die Änderung in der Kohlensäurespannung des Blutes zum Ausdruck zu kommen braucht, wenn ein die Lungenventilation und damit die Einstellung des Niveaus der Blutkohlensäure mitbeherrschender Respirationsfaktor, nämlich die Erregbarkeit des Atemzentrums, sich in der Richtung einer Abnahme geändert hat. Im allgemeinen kann man die Erregbarkeit des Atemzentrums als wenig wechselnd betrachten. Aber es gibt doch Zustände, in denen sie verändert ist. Bei Morphinvergiftung[1]) z. B., auch bei schwerem Diabetes, ist sie herabgesetzt. Hier kann eine zugleich bestehende Säurevergiftung mit einer normalen oder möglicherweise übernormalen Spannung der Blutkohlensäure einhergehen. Umgekehrt kann die Spannung der Blutkohlensäure herabgesetzt sein bei gesteigerter Erregbarkeit des Atemzentrums, ohne daß eine Säureintoxikation besteht. Man müßte also in jedem Falle zugleich die Erregbarkeit des Atemzentrums feststellen.

Zu diesem Einwand kommt für die Carnivoren und den Menschen der weitere, daß zunächst ja, wie erwähnt, die abnormen sauren Produkte durch Ammoniak abgesättigt werden

---

[1]) A. Loewy, Zur Kenntnis der Erregbarkeit des Atemzentrums. Arch. f. d. ges. Physiol. 47, 601, 1890.

und erst bei hochgradiger Vergiftung die fixen Alkalien des Blutes mit Beschlag belegt werden. Begun, Herrmann und Münzer[1]) haben für den Menschen direkt gezeigt, daß eine über 10 Tage sich erstreckende Aufnahme von Salzsäure zu gesteigerter Ammoniakausscheidung, aber nicht zu einer Erniedrigung der Kohlensäurespannung des Blutes führt. — Will man also von den zuvor besprochenen Einwänden absehen, so stellt doch die Säurevergiftung, die man aus der Verminderung der Spannung der Blutkohlensäure erschließt, wenn wir die Herbivoren ausnehmen, etwas anderes dar, einen weit schwereren Zustand, als derjenige ist, der aus der gesteigerten Ammoniakausscheidung erschlossen wird.

Aber vom streng physikalisch-chemischen Standpunkte betrachtet dürfen selbst diejenigen Fälle, in denen man es mit einer herabgesetzten Blutkohlensäurespannung zu tun bekommt, noch nicht als Säurevergiftung bezeichnet werden. Denn nicht nur eine Verminderung des normalen Alkaligehaltes, sondern erst eine dauernde Störung des Gleichgewichtes zwischen CO_2 und $NaHCO_3$, also eine Änderung der Ionenkonzentration im Sinne eines Überwiegens der $H^{\cdot}$-Ionen würde als pathologische Säuerung zu betrachten sein.

Diese ist aber bisher — am Menschen — wohl nach reichlicher Zufuhr von Mineralsäuren[2]), dagegen kaum je bei Erkrankungen, die mit sicherer pathologischer Mehrproduktion von Säuren einhergehen, wie im schwerem Diabetes, festgestellt worden[3]). Nur im diabetischen Koma hat sie sich gefunden.

Legt man also die Begriffsbestimmung, die sich auf das Verhalten der sog. aktuellen Reaktion aufbaut, denjenigen Zuständen zugrunde, die man als Säurevergiftung bezeichnen will, so würde diese Krankheitskategorie aus der Pathologie so gut wie auszuscheiden haben. —

Die Anschauungen über den Begriff der Säurevergiftung sind heute so weit geklärt, daß die vorstehend erörterten Differenzen zu keinen besonderen Schwierigkeiten mehr zu führen

---

[1]) Begun, Herrmann, Münzer, Über Acidosis ltc. Diese Zeitschr. **71**, 255, 1916.

[2]) A. Szili, Experim. Unters. über Säureintoxikation. Arch. f. d. ges. Physiol. **115**, 82, 1906.

[3]) H. Benedict, Der Hydroxylionengehalt des Diabetikerblutes. Ebenda 106.

brauchen. Es handelt sich im wesentlichen um quantitative Unterschiede in der Schwere der Erkrankung. Die nur durch gesteigerte Ammoniakbildung sich kennzeichnende pathologische Säurebildung würde den leichtesten Grad darstellen, einen schwereren die Herabsetzung der Kohlensäurespannung des Blutes, kontrolliert durch Bestimmung der Erregbarkeit des Atemzentrums, den schwersten mit dem Leben kaum noch verträglichen, die Abweichung der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration des Blutes von der Norm [1]).

Alle bisher genannten Formen pathologischer Säuerung hatten das Gemeinsame, daß die absolute Menge der im Körper gebildeten Säuren gesteigert war. Nun hat vor kurzem Hasselbalch [2]) eine ganz neue Art beschrieben, die er am Menschen beobachtet und im Gegensatz zu den übrigen als „relative Acidose" bezeichnet hat. Sie besteht darin, daß bei herabgesetzter Kohlensäurespannung in der Lungenalveolenluft, d. h. im Blute, die Ammoniakbildung gegenüber der Norm herabgesetzt ist, d. h. die im Harn erscheinenden sauren Moleküle im Verhältnis zu den basischen relativ vermehrt sind.

Hasselbalch beobachtete diese Form beim Aufenthalt im pneumatischen Kabinett unter Luftverdünnung, so daß der Barometerdruck 455 bis 500 mg Hg betrug. Die gefundene Abnahme der Ammoniakmenge, berechnet in Prozenten des Gesamtstickstoffes und reduziert auf gleiche Ionenkonzentration des Harnes, mit der die Ammoniakzahl des Harns in Beziehung steht, betrug 25 bis 33%.

Dieses Verhalten fand sich nicht in den ersten Tagen des Aufenthaltes im luftverdünnten Raume, vielmehr deutlich erst, wenn bereits Akklimatisation eingetreten war. —

Uns interessierte die Frage, ob es sich bei diesem ganz neuen Befunde um die Unfähigkeit des Körpers, Ammoniak zu Zwecken der Neutralisation zur Verfügung zu stellen, handle. Daß die Schwankungen der Ammoniakabgabe, wie sie unter normalen Verhältnissen schon durch den Ernährungszustand

---

[1]) Vgl. hierzu K. A. Hasselbalch, Ammoniak als physiologischer Neutralitätsregulator. Diese Zeitschr. 74, 45, 1916.

[2]) K. A. Hasselbalch, Die reduzierte Ammoniakzahl des Harns bei Sauerstoffmangel. Diese Zeitschr. 74, 48, und ders. und I. Lindhard, Zur experim. Physiologie des Höhenklimas. IV. Ebenda S. 1.

des Körpers zustande kommen, erhalten sind, geht aus Hasselbalchs Bestimmungen hervor.

Wir wollten ermitteln, wie die Ammoniakabgabe bei Säurezufuhr unter Sauerstoffmangel sich gestaltete.

Wir berichten hier zunächst über eine Versuchsreihe am Hunde und behalten uns die Mitteilung weiterer Versuche vor.

Der Versuch dauerte 10 Tage. An jedem Tage, mit Ausnahme von zweien, erhielt das Versuchstier mit dem an Beschaffenheit und Menge stets gleichen Futter aus Kartoffelflocken, Pferdefleisch und Fett, bei dem sich sein Gewicht allmählich von 8,3 kg auf 9,7 kg steigerte, 1,5 g Salzsäure in $1^{0}/_{0}$iger Lösung. Die ersten 4 Tage blieb es in seinem Käfig, also bei annähernd Atmosphärendruck. Am 5. und 6. Tage kam es in das pneumatische Kabinett unter Luftverdünnung in einen in diesem untergebrachten Käfig. An diesen Tagen erhielt es keine Säure. An den vier letzten Tagen blieb es gleichfalls — wie stets 22 bis 23 Stunden pro die — unter Luftverdünnung, erhielt aber zugleich dieselbe Salzsäuremenge wie früher dem Futter beigemengt. Leider fraß das Tier an diesen Tagen sein Futter nicht auf. Dabei zeigte es, abgesehen vom 1. Tage der Luftverdünnung (25. Oktober), beim weiteren Aufenthalt im luftverdünnten Raum keinerlei Zeichen von Kranksein. Es saß im Käfig meist aufrecht, und nach dem Öffnen der Kammer sprang es Tag für Tag, wie auch sonst nach Öffnen seines Käfigs, lebhaft umher. Die absoluten Gesamtstickstoff- und Ammoniakwerte sind so zwar nicht für alle Tage ohne weiteres vergleichbar, bleiben aber immerhin für Schlußfolgerungen verwertbar, ebenso auch die für den prozentigen Anteil des Ammoniakstickstoffs am Gesamtstickstoff. Die Ergebnisse und den genaueren Verlauf der Versuchsreihe zeigt die umstehende Tabelle.

Schon in der ersten Periode sind infolge der Salzsäurezufuhr die prozentigen Ammoniakwerte über die für den Hund normalen Werte erhöht. Auch an dem 2. Tage der Zwischenperiode — am ersten (dem 25. X.) ging der Harn verloren — sind sie noch nicht zur Norm zurückgekehrt. Die Luftverdünnung, die, wie erwähnt, nur am ersten Tage den Hund derart beeinflußte, daß er still auf dem Boden des Käfigs lag, hatte an den folgenden Tagen auf sein Allgemeinbefinden keinen

Datum	Barom. Druck mm Hg	Ausscheidung von Gesamt-N g	NH$_3$-N g	NH$_3$-N in % des Gesamt-N	Bemerkungen
I. 21. X.	um 758	1,87	*0,239*	**12,8**	Vom 21. bis 24. X.: HCl-Zufuhr in angegebener Menge.
22.	do.	1,81	*0,391*	**21,6**	
23.	do.	2,49	*0,192*	**7,7**	
24.	do.	2,03	*0,260*	**12,8**	
II. 25. X.	506	—	—	—	
26.	446	2,11	*0,270*	**12,8**	Keine Salzsäurezufuhr.
III. 27. X.	500	2,33	*0,414*	**17,7**	Vom 27. bis 30. X. Salzsäurezufuhr. Hund frißt am 27. X. nur die Hälfte, am 28. X. nur 1/4 seines Futters; am 29. und 30. X. etwa 3/4 desselben.
28.	437	1,15	*0,126*	**10,9**	
29.	422	0,59	*0,329*	**56,2**	
30.	411	0,35	*0,239*	**68,0**	

erkennbaren Einfluß. Dabei zeigt nun die Ammoniakausscheidung keine deutliche Änderung gegenüber den Werten bei Atmosphärendruck. Das bedeutet aber nicht nur, daß auch bei der schon erheblichen Luftverdünnung auf 437 bis 500 mm Barometerdruck das Tier noch die zugeführte Säure durch Ammoniakabgabe zu neutralisieren vermochte. Vielmehr war relativ die Ammoniakabgabe sogar höher als bei Atmosphärendruck. Denn da, wie aus den Angaben der Protokolle ersichtlich ist, an den beiden ersten Tagen der dritten Periode nur 1/4 bis zur Hälfte des Futters, an den beiden letzten 3/4 des Futters gefressen, also auch nur der vierte Teil bis zu drei Vierteln der bis dahin aufgenommenen Salzsäuremengen dem Körper eingeführt wurden, hätte eine geringere absolute Ammoniakausscheidung erwartet werden können. Dazu kommt, daß die ausgeschiedene Gesamtstickstoffmenge nur am ersten Tage der dritten Periode auf der Höhe der Vortage lag, am zweiten nur die Hälfte, am dritten 1/4, am vierten gar nur 1/8 derselben ausmachte.

Also auch der Anteil der Ammoniakausscheidung, der mit dem Zerfall von Eiweißsubstanz zusammenhängt, mußte vermindert sein.

Die hoch bleibende Menge ausgeschiedenen Ammoniaks in Verbindung mit der zunehmend sinkenden an Gesamtstickstoff führt nun dazu, daß am 3. und 4. Tage des Aufenthaltes unter

Luftverdünnung derjenige Anteil am gesamten ausgeschiedenen Stickstoff, der als Ammoniak abgegeben wird, ganz enorm ansteigt. Mehr als die Hälfte bis zu $^2/_3$ der ganzen Harnstickstoffmenge sind Ammoniak. Das sind so enorme Mengen, wie sie bisher kaum beobachtet worden sind.

Daß dieser Effekt am 3. und 4. Tage besonders deutlich wird, hat verschiedene Ursachen. Einerseits die Nachwirkung der vorangegangenen Tage. Sodann war infolge besseren Fressens die Zufuhr der Salzsäure höher als an den beiden vorhergehenden Tagen, endlich war die Luftverdünnung etwas weiter getrieben.

Sieht man die gesteigerte Ammoniakausscheidung als Neutralisationsvorgang zur Absättigung saurer Produkte an, wozu man nicht nur auf Grund der älteren, sondern gerade der neuesten oben zitierten Arbeiten ein Recht hat, so muß man in Übereinstimmung mit den Anschauungen früherer Autoren[1]) schließen, daß in unserem Falle der Aufenthalt unter der gewählten Luftverdünnung zur Produktion saurer Produkte bei unserem Versuchstiere geführt hat, daß es sich aber nicht nur um eine relative Acidose nach Hasselbalch, vielmehr um eine wirkliche Säureintoxikation neben der durch die Salzsäurezufuhr herbeigeführten gehandelt hat.

Da aus äußeren Gründen das pneumatische Kabinett uns für unsere Versuche nicht länger zur Verfügung stand, mußten wir diesen Versuch abbrechen. In einer späteren Mitteilung gedenken wir, weiter auf die vorliegende Frage einzugehen.

---

[1]) Zuntz, Loewy, Müller, Caspari, Höhenklima und Bergwanderungen, S. 428 ff. Berlin 1906.

Über den Nachweis von Tyrosol und Tryptophol in verschiedenen Gärprodukten.

Von

Felix Ehrlich.

(Aus dem Landwirtschaftlich-technologischen Institut der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 4. Dezember 1916.)

Von den Substanzen, die bei der alkoholischen Gärung der Aminosäuren mittels Hefe zufolge der Bruttogleichung

$$R.CH(NH_2).CO_2H + H_2O = R.CH_2OH + CO_2 + NH_3$$

entstehen, sind die erst in den letzten Jahren aufgefundenen[1]), aus Tyrosin und Tryptophan hervorgehenden beiden Alkohole, das Tyrosol und das Tryptophol,

$$HO\langle\quad\rangle CH_2.CH(NH_2).CO_2H \rightarrow HO\langle\quad\rangle CH_2.CH_2OH$$

Tyrosin → Tyrosol (p-Oxyphenyläthylalkohol)

$$C_6H_4\begin{matrix} C.CH_2.CH(NH_2).CO_2H \\ CH \\ NH \end{matrix} \rightarrow C_6H_4\begin{matrix} C.CH_2.CH_2OH \\ CH \\ NH \end{matrix}$$

Tryptophan → Tryptophol (β-Indolyläthylalkohol)

wegen ihrer eigentümlichen Konstitution und ihrer charakteristischen chemischen Eigenschaften unzweifelhaft die interessantesten. Beide Alkohole bilden sich bei der Vergärung der betreffenden Aminosäurelösungen mit viel Zucker und Hefe äußerst leicht und glatt und können den vergorenen Flüssigkeiten durch Ätherextraktion bequem meist in einer Reinausbeute bis zu 80 % der Theorie entzogen werden. Tyrosol sowohl wie Tryptophol zeichnen sich vor allem durch ihre leichte Krystallisationsfähigkeit, scharfen Schmelzpunkt und verschie-

---

1) F. Ehrlich, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **40**, 1047, 1907; **44**, 139, 1911; **45**, 883, 2428, 1912.

dene typische Reaktionen aus, mit Hilfe deren man sie mit Sicherheit von anderen Gärprodukten unterscheiden kann. Tryptophol ist auch noch dadurch besonders bemerkenswert, daß in ihm der einzige bisher bekannt gewordene stickstoffhaltige Alkohol der Gärung vorliegt.

Die Bildung dieser Alkohole erfolgt naturgemäß am günstigsten bei Vergärung reiner Aminosäurelösungen in Gegenwart von reinem Rohr- oder Traubenzucker, ist aber, wenn auch in geringerem Maße, auch in den Fällen zu beobachten, wo Tyrosin und Tryptophan im Gemisch mit anderen Aminosäuren, etwa mit hydrolysiertem Eiweiß, oder überhaupt mit irgendwelchen anderen Substanzen, wie sie sich in Gärsubstraten finden, vorliegen. So war es erklärlich, daß sich auch bei der Gärung von reinem Zucker mit reiner Hefe in Abwesenheit von sonstigen Stickstoffsubstanzen Tyrosol und Tryptophol deutlich nachweisen ließen. In diesem Falle entstehen die beiden Alkohole offenbar aus dem Eiweiß der Hefezellen, das während der Gärung dem Stoffwechsel unterliegt und dabei durch enzymatische Vorgänge eine partielle Zerlegung in die verschiedenen Aminosäuren, darunter auch Tyrosin und Tryptophan, erfährt.

Wie ich in früheren Arbeiten[1]) wiederholt auseinandergesetzt habe, sind bei allen natürlichen und künstlichen Gärungsvorgängen, die von lebenden Hefezellen ausgelöst werden, die Bedingungen der alkoholischen Gärung der Aminosäuren ohne weiteres gegeben. In allen natürlichen Gärsubstraten sind, aus dem Eiweiß der Rohmaterialien herstammend, Aminosäuren in reichlicher Menge vorhanden, und außerdem werden solche infolge autolytischer Prozesse während der Gärung aus dem Eiweiß der Hefezellen mobilisiert. Da Tyrosin und Tryptophan Bestandteile der meisten pflanzlichen Eiweißarten sind, so war vorauszusehen, daß selbst ohne künstlichen Zusatz dieser Aminosäuren sich bei jeder Art Hefegärung außer anderen Nebenprodukten regelmäßig stets auch Tyrosol und Trytophol bilden müssen.

---

[1]) F. Ehrlich, diese Zeitschr. **2**, 52, 1906; **18**, 391, 1909; **36**, 477, 1911; Zeitschr. d Ver. Deutsch. Zuckerind. **55**, 539, 1905; Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **40**, 1027, 1907; Landw. Jahrbücher **1909**, V, 289; Mitteil. d. landw. Institute, Universität Breslau, **6**, 705, 1913; Zeitschr. f. angew. Chem. **27**, 48, 1914; Wochenschr. f. Brauerei **1913**, Nr. 43.

Für die Richtigkeit dieser Anschauung liefern die im folgenden beschriebenen Untersuchungen, die ich schon vor längerer Zeit mit Dr. F. Lange angestellt habe, den endgültigen Beweis. Es geht daraus zur Genüge hervor, daß Tyrosol und Tryptophol als regelmäßige Bestandteile der bekanntesten technischen Gärprodukte, wie Wein, Bier und Brennereischlempe, zu betrachten sind, in denen die beiden Alkohole sich deutlich nachweisen ließen und aus denen sie zum Teil sogar in Substanz zu isolieren waren.

Im Gegensatz zu den Versuchen mit künstlichem Zusatz der betreffenden Aminosäuren bot allerdings die Isolierung des Tyrosols und Tryptophols aus den genannten Gärprodukten gewisse Schwierigkeiten besonders infolge des großen Ballastes anderer Substanzen, die schon in den Rohstoffen vorhanden oder nebenher entstanden und zum Teil ebenfalls ätherlöslich sind. Die aus den alkalischen Lösungen der Gärprodukte gewonnenen Ätherextrakte wurden gewöhnlich nur als Sirupe erhalten, die meist scharf die charakteristischen Reaktionen des Tyrosols und Tryptophols gaben, aber auch nach wiederholter Reinigung nur sehr wenig Neigung zur Krystallisation zeigten. Dagegen gelang es fast immer, nach längerem Erwärmen der Extrakte mit Alkali deutliche Mengen von krystallisiertem Tyrosol daraus abzuscheiden. Eine Erklärung für diese Erscheinung ist offenbar dadurch gegeben, daß in den untersuchten Gärprodukten nur wenig freies Tyrosol enthalten war, vielmehr die Hauptmenge des Tyrosols in Form öliger Ester verschiedener Säuren vorlag, aus denen erst nach Verseifung der freie Alkohol isoliert werden konnte. Ähnlich verhielt sich das Tryptophol, das aus Wein in Spuren krystallisierbar, bisher sonst nur durch seine Reaktionen mit Dimethylamidobenzaldehyd zu identifizieren war. Dieses Verhalten der beiden Alkohole in den technischen Gärprodukten stimmt überein mit Erfahrungen, die ich unterdes allgemein mit der Esterbildung bei der alkoholischen Gärung der Aminosäuren gemacht habe und über die ich demnächst ausführlicher berichten werde[1]).

[1]) Vorläufig mitgeteilt auf der Wiener Naturforscherversammlung, 1913, Sektion für Chemie. Vgl. Referat in Wochenschr. f. Brauerei **1913**, Nr. 43.

Da bei den nachstehenden Versuchen mehr Wert auf den qualitativen als auf den quantitativen Nachweis von Tyrosol und Tryptophol in den einzelnen Gärprodukten gelegt wurde, so waren die tatsächlich abgeschiedenen Mengen der beiden Alkohole an sich recht gering und betrugen nur Bruchteile eines Gramms. Es scheint aber, daß sich durch entsprechende Verbesserung der Isolierungsverfahren noch wesentlich günstigere Ausbeuten erzielen lassen. Man muß demnach die Mengen von Tyrosol und Tryptophol resp. ihren Estern, die sich im Wein, Bier und in der Schlempe vorfinden, als relativ recht beträchtlich ansehen, besonders wenn man die große Verdünnung und den geringen Trockensubstanzgehalt der Gärprodukte in Betracht zieht, von denen doch zum Teil nur kleine Volumina zur Untersuchung kamen, und wenn man vor allem damit vergleicht, daß doch auch die Mengen der übrigen Nebenprodukte der Gärung, wie Glycerin, Bernsteinsäure und Fuselöl, absolut genommen, nur gering sind. Nach dem alten Pasteurschen Berechnungsmodus, der ja heute nur teilweise noch zutreffend ist, entstehen bei der Gärung, auf Zucker bezogen, 3 bis 4 % Glycerin und 0,4 bis 0,7 % Bernsteinsäure[1]), während dabei Fuselöl, auf entstandenen Alkohol berechnet, nur in Mengen von 0,4 bis 0,7 % auftritt. Mit der Größenordnung dieser Mengenverhältnisse ist aber der Anteil an Tyrosol und Tryptophol in den Gärungsnebenprodukten, wie die vorliegenden Untersuchungen zeigen, durchaus vergleichbar. Zur Feststellung dieses Tatbestandes muß im übrigen auch schon die Überlegung führen, daß die Muttersubstanzen der beiden Alkohole, Tyrosin und Tryptophan, in den meisten Eiweißarten in nicht unbeträchtlichen Quantitäten vorhanden sind, die jedenfalls auch nicht allzusehr von denen der Leucine, der Muttersubstanzen des Fuselöls, abweichen. Man wird also künftig mit gleicher Berechtigung unter den regelmäßigen Produkten der alkoholischen Zucker-Hefe-Gärung neben Glycerin, Bernsteinsäure und Fuselöl auch Tyrosol und Tryptophol zu nennen haben.

Die hier mitgeteilten Befunde dürften, auch vom Stand-

[1]) Über die Entstehung der Bernsteinsäure bei der Gärung als Eiweißstoffwechselprodukt der Hefe aus Glutaminsäure siehe F. Ehrlich, diese Zeitschr. 18, 391, 1909.

punkte der Nahrungsmittelchemie betrachtet, besonderes Interesse besitzen. Schon früher habe ich mehrfach darauf hingewiesen, daß die bei der alkoholischen Gärung der Aminosäuren auftretenden Stoffwechselprodukte der Hefe, die je nach der Art des Grundmaterials der Gärung und je nach der Heferasse aus den verschiedenen pflanzlichen Eiweißstoffen in wechselnden Mengen entstehen können, offenbar eine sehr wesentliche Rolle bei der Bildung der Geruchs- und Geschmacksstoffe gegorener Getränke spielen müssen. In dieser Hinsicht sind gerade die flüchtigen Ester der Alkohole der Fuselöle für die Entstehung des Aromas und der Blume des Weines von besonderer Bedeutung. Daß aber hierfür auch nichtflüchtige Esterverbindungen bestimmter Alkohole der aromatischen und heterozyklischen Reihe aus Aminosäuren wohl in Frage kommen können, wird durch den gelungenen Nachweis von Tyrosol und Tryptophol im Wein und Bier recht wahrscheinlich. Es ist wohl möglich, daß gerade unter den Estern des Tyrosols und Tryptophols sich besonders charakteristisch riechende und schmeckende Verbindungen befinden, die in natürlichen und technischen Gärprodukten die Geschmacksbildung wesentlich beeinflussen können.

Die folgenden Untersuchungen wurden mit Wein, Bier und einer bei der Getreidebrennerei abfallenden Schlempe schon in den Jahren 1913 bis 1914 ausgeführt. Sämtliche Gärprodukte besaßen eine für die damalige Zeit normale Beschaffenheit.

Wein.

3 l Weißwein (Heßlocher 1909)[1]) wurden im Vakuum bis zum Sirup eingedampft, der mit dem mehrfachen Volumen Alkohol verrührt wurde. Die von den Ausscheidungen abfiltrierte Lösung ergab nach dem Abdestillieren des Alkohols einen gelbbraunen Rückstand, der nach mehrmaligem Aufnehmen mit Wasser etwa 5 Stunden lang mit $10^{0}/_{0}$iger Natronlauge bei Wasserbadwärme verseift wurde. Eine direkte Extraktion mit Äther lieferte beim Verdampfen des vorher mit geglühtem Natriumsulfat getrockneten Auszuges 0,06 g eines gelblichen Öles von aromatischem Geruch, dessen Lösung in Wasser mit Blut-

[1]) Als garantierter Naturwein durch Vermittelung der Weinbauversuchsanstalt Geisenheim bezogen.

kohle geklärt wurde. Nach dem Eindampfen verblieb ein farbloser, schwach indolähnlich riechender Sirup, der auch nach längerem Stehen nur sehr wenig Kryställchen ausschied. Da eine Vorprobe Tryptophol vermuten ließ, so wurde der gesamte Rückstand (0,05 g) mit wenig Wasser aufgenommen und mit 2 bis 3 ccm einer alkoholischen Lösung von Dimethylamidobenzaldehyd und einigen Tropfen verdünnter Salzsäure versetzt[1]). Ein davon abgenommener Teil gab selbst nach längerem Stehen in der Kälte keine Farbreaktion, was auf die Abwesenheit von Indol deutet. Die Hauptmenge der Lösung wurde nunmehr längere Zeit im Wasserbade erwärmt, wobei eine nach und nach sehr kräftig werdende blaurote Färbung auftrat, die nach dem Abkühlen durch Schütteln mit einigen Kubikzentimetern Amylalkohol von diesem aufgenommen wurde. Die spektroskopische Untersuchung ergab ein starkes Absorptionsband im Gelb und ein etwas schwächeres im Grün. Die Bande im Grün wurde nach einiger Zeit schwächer, wofür eine neue im Rot auftrat. Beim Erwärmen verschwand jedoch das Absorptionsband im Rot wieder, während die Streifen im Gelb und Grün ihre frühere Intensität zeigten.

Eine Kontrollreaktion, die unter denselben Bedingungen mit einigen Kryställchen reinen Tryptophols angestellt wurde, zeigte genau dieselben Absorptionserscheinungen im Spektrum, so daß kein Zweifel besteht, daß in dem obigen Ätherextrakt tatsächlich geringe Mengen Tryptophol (β-Indolyläthylalkohol) vorgelegen haben. Eine in derselben Weise mit etwas Indol angestellte Reaktion lieferte bereits in der Kälte eine intensive, an Phenolphthaleinalkali erinnernde Rotfärbung, die keine der genannten Absorptionserscheinungen zeigte.

Zur Prüfung auf Tyrosol wurde die extrahierte, ätzalkalische Lösung mit Schwefelsäure schwach angesäuert und darauf mit Natriumbicarbonat alkalisch gemacht. Nach etwa 20stündigem Ausäthern wurden aus dem getrockneten Auszug 0,08 g eines angenehm riechenden, öligen Extraktes mit starker Millonscher Reaktion gewonnen, der nach der Reinigung 0,04 g gut krystallisiertes Tyrosol vom richtigen Schmelzpunkt 93° ergab. Der Rest wurde in der bekannten Weise in die Dibenzoylver-

[1]) F. Ehrlich, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **45**, 886, 1912.

bindung übergeführt. Die aus Alkohol vorsichtig umkrystallisierte Substanz (0,03 g) schmolz ziemlich scharf bei 111^{0}, dem Schmelzpunkt des reinen Dibenzoats[1]).

Bier.

1. Zur Verarbeitung gelangten 12 l eines unter der Marke „Haase Hell“ von der Brauerei E. Haase in Breslau geführten Bieres von Münchener Farbe. Das Bier wurde zunächst über freier Flamme und zuletzt auf dem Wasserbade zu einem dünnflüssigen Sirup eingedampft, den man in kleinen Portionen unter kräftigem Umrühren in ca. 2 l Alkohol eintrug, wodurch die Hauptmenge der die Extraktion sehr störenden Eiweißstoffe abgeschieden werden konnte. Das goldgelbe, vollkommen klare Filtrat wurde durch Destillation vom Alkohol befreit, dessen letzte Spuren durch mehrmaliges Aufnehmen und Eindampfen des Rückstandes mit Wasser vertrieben wurden. Eine in bicarbonatalkalischer Lösung vorgenommene erschöpfende Ätherextraktion lieferte etwa 3 g eines bräunlichen, mit Millons Reagens stark positiv reagierenden Sirups, der auch nach mehrtägigem Stehen nicht krystallisierte.

Da offenbar auch hier das Tyrosol in Esterform gebunden vorlag, so wurde der Extrakt durch etwa 6 stündiges Erwärmen mit überschüssiger 10%iger Natronlauge auf dem Wasserbade verseift. Eine erneute Extraktion in bicarbonat-alkalischer Lösung lieferte nur geringe Mengen (0,2 g) eines sehr stark auf Millon reagierenden Sirups, aus dem indes ebenfalls zunächst kein krystallisierendes Tyrosol abzuscheiden war. Erst dadurch, daß man die ölige Masse vorsichtig kurze Zeit mit Äther verrieb, gelang es, aus den in Äther am leichtesten löslichen Anteilen das Tyrosol in schönen Krystallen abzuscheiden, die aus Chloroform 0,03 g Nädelchen vom Schmelzpunkt 93^{0} lieferten. Aus den sirupösen Rückständen, die offenbar noch reichliche Mengen Tyrosol enthielten, wurde durch Schütteln mit Benzoylchlorid und Alkali noch geringe Mengen von Tyrosoldibenzoat vom richtigen Schmelzpunkt 111^{0} gewonnen.

Die durch Ausäthern in saurer Lösung erhaltenen Extrakte gaben nur sehr schwach die Millonsche Reaktion, enthielten

---

[1]) F. Ehrlich, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **44**, 139, 1911.

also wohl nur spurenweise saure Ester des Tyrosols, deren Aufarbeitung sich nicht lohnte.

2. In gleicher Weise wurden 12 l helles Bier, „Haase Pilsener“, verarbeitet. Hierbei wurde bei der ersten Extraktion in bicarbonatalkalischer Lösung 4 g eines bräunlichen Sirups gewonnen, der, in gleicher Weise verseift, etwa 0,3 g rohes Tyrosol lieferte, dessen Reinigung sich dieselben Schwierigkeiten entgegenstellten. Immerhin schien die Ausbeute etwas höher wie oben angegeben zu sein. An krystallisierter reiner Substanz wurden 0,05 g erhalten. Der nicht krystallisierende Anteil gab noch eine kleine Menge der Dibenzoylverbindungen vom Schmelzpunkt 111°.

Die ätzalkalischen Auszüge ergaben, mit Dimethylamidobenzaldehyd und Salzsäure behandelt, deutlich positive Reaktionen, die in beiden Fällen die Anwesenheit von Tryptophol vermuten ließen. Es konnte jedoch in Substanz nicht isoliert werden.

Getreidebrennereischlempe.

20 l frische Schlempe aus der Getreidebrennerei E. Hennig, Breslau, wurden durch Leinwand filtriert. Das Filtrat spindelte 5° Blg. bei 23°, 10 ccm davon verbrauchten zur Neutralisation gegen Phenolphthalein 6,2 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH. Die gesamte Flüssigkeitsmenge wurde zunächst über freier Flamme, dann auf dem Wasserbade zum dünnflüssigen Sirup eingeengt, der unter stetem Rühren in 3 l 96%igen Alkohols eingegossen wurde. Das klare, gelbbraune Filtrat wurde destilliert und der Rückstand zur völligen Vertreibung des Alkohols nochmals nach Wasserzusatz wieder eingedampft. Die Extraktion des schließlich gewonnenen alkoholfreien Sirups erfolgte in Portionen, und zwar wurde in dem einen Falle direkt in bicarbonatalkalischer Lösung ausgeäthert und der so erhaltene Extrakt nach 8 stündiger Verseifung mit 10%iger NaOH bei Wasserbadwärme nochmals mit Äther extrahiert. Im anderen Falle wurde der ursprüngliche Sirup selbst vor der Extraktion mit Alkali verseift und darauf bicarbonatalkalisch ausgeäthert. Es zeigte sich dabei, daß das letztere Verfahren vorzuziehen ist.

Im ganzen wurden aus 20 l frischer Schlempe 0,21 g fast ganz reines Tyrosol vom Schmelzpunkt 92° erhalten. Da auch

hier ähnlich wie beim Bier die Krystallisation durch ölige Verunreinigungen sehr gestört wurde, so ist der wirkliche Gehalt der Schlempe an Tyrosol offenbar noch beträchtlich höher zu veranschlagen.

Zur Analyse wurde das freie Tyrosol in der bekannten Weise in die Dibenzoylverbindung übergeführt, die, nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol über Schwefelsäure getrocknet, richtig bei 111^0 schmolz.

0,0938 g Substanz; 0,2619 g CO_2; 0,0460 g H_2O.

Für $C_{22}H_{18}O_4$: Ber. C 76,30; H 5,20.
Gef. C 76,15; H 5,49.

Die durch Extraktion in ätzalkalischer Lösung erhaltenen Auszüge lieferten beim Verdampfen des Äthers 0,6 g einer in Wasser vollkommen unlöslichen Substanz, die, aus Alkohol umkrystallisiert, glänzende Blättchen vom Schmelzpunkt 56^0 ergaben. Ihre Menge war jedoch zur näheren Untersuchung zu gering. In den wasserlöslichen Anteilen dieser Extrakte war offenbar Tryptophol enthalten, wie aus den typischen Farbreaktionen der Lösung zu folgern war.

Aus den sauren Ätherauszügen wurden im ganzen 33 g Sirup erhalten, die fast tyrosolfrei waren und aus denen 2,0 g reine Bernsteinsäure auskrystallisierten.

Die nach erschöpfender Ätherextraktion verbleibende saure Flüssigkeit lieferte längere Zeit, heiß mit Alkali behandelt, nach dem Wiederansäuern und erneutem Extrahieren mit Äther 6,6 g Sirup, aus dem noch 0,2 g reine Bernsteinsäure abzuscheiden war. Dieser Teil der Bernsteinsäure muß sich also ursprünglich in Form einer ätherunlöslichen, esterartigen Verbindung in der Schlempe befunden haben. Derartige ätherunlösliche Verbindungen der Bernsteinsäure scheinen neben der freien Säure stets bei der Hefegärung in wechselnden Mengen aufzutreten, worüber ich später noch ausführlicher berichten werde.

Über Blutnachweis, insbesondere mittels Malachitgrüns, und eine neue Probe mit Rhodamin.

Von

E. Fuld.

(Eingegangen am 5. Dezember 1916.)

Der qualitative und quantitative Nachweis von Blut spielt auf verschiedenen Gebieten der Medizin eine wichtige Rolle. Als charakteristisches Element des Blutes dient dabei, abgesehen von gewissen Ausnahmefällen, in denen der mikroskopische Nachweis seiner Elemente möglich und hinreichend kennzeichnend ist, allemal sein Farbstoff, das Hämoglobin. Jedoch sind es nicht allein dessen Farbstoffeigenschaften, die ihm dieses Privileg verleihen, sondern zwei andere Besonderheiten des Blutes sind gleichfalls an ihn geknüpft, diejenige einer molekularen Anlagerung des Sauerstoffs, die dem Hämoglobin seine große biologische Rolle als Sauerstoffzubringer gibt, und sein Verhalten zum Wasserstoffsuperoxyd. Wir kennen bis jetzt keinen chemischen Bestandteil des Blutes, der auch nur eine einzige derartig prägnante zum Nachweis geeignete Eigenschaft besitzt, was gewiß für die Sicherheit des Blutnachweises selbst bedauerlich bleibt.

Wichtig ist der Blutnachweis vor allem für die forensische und für die innere Medizin. Wenn auch die Gesichtspunkte beider Fächer in dieser Frage verschieden sind, so bleibt es doch auffällig, daß die Literaturen einander so wenig berühren. Eine gegenseitige größere Berücksichtigung würde vermutlich für beide von Vorteil sein. Die gerichtliche Medizin fragt, ob eine vorgelegte Substanz, auf die sie meist durch die Färbung hingewiesen wird, Blut oder verändertes Blut ist. Entsprechend der großen Verantwortung, die sich an die Beantwortung dieser Frage knüpft, sowie der Unmöglichkeit, neues

Material zu erlangen, an dem das Ergebnis nachgeprüft werden kann, muß sich der gerichtliche Mediziner einer größeren Anzahl von Proben bedienen, um sogleich zu dem erreichbaren Grade von Sicherheit zu gelangen. Häufig wird er außerdem vor der Frage stehen, welches die Herkunft des von ihm nachgewiesenen Blutes sei.

Die innere Medizin dagegen kennt die Herkunft des zur Untersuchung vorgelegten Objektes und fragt, ob und wieviel Blut demselben beigemengt sei. Er ist in der Lage, die Untersuchung wiederholen zu können — wenigstens gilt das für die Mehrzahl der Fälle. Zu einer Wiederholung ist er sogar fast immer verpflichtet. Aus diesem Grunde wird er sich häufig nicht auf eine einzige Probe beschränken, jedenfalls aber solche auswählen, die bei ausreichender Feinheit nicht allzu zeitraubend sind, um so mehr, als er oft eine ganze Anzahl derartiger Untersuchungen bei verschiedenen Kranken ausführen zu müssen in der Lage ist. Zur Untersuchung kommen hauptsächlich die Exkrete des Körpers, Urin und Stuhl, von denen der erstere normalerweise auch für die feinsten zur Verfügung stehenden Methoden blutfrei ist, während letzterer außer beim Säugling meistens aus der Nahrung stammendes Blut enthält, so daß zu einer diagnostisch auszubeutenden Untersuchung eine besondere Vorbereitung gehört, abgesehen von Fällen mit zuverlässiger Anamnese, in denen die gefundenen Blutmengen unverhältnismäßig große sind. Fast nur unter der letztgenannten Voraussetzung kommt die Untersuchung des Mageninhaltes auf Blut vorerst in Betracht.

Während die gerichtliche Medizin meist von einem Nachweis von Blutspuren spricht, führt man nach dem Vorgang von Boas das in den Sekreten und Exkreten des Verdauungstraktes sich findende Blut, solange es nicht makroskopisch erkennbar ist oder exogen ist (aus der Nahrung stammt), auf „okkulte“ Blutung zurück.

Obwohl sie streng begrifflich nicht hierher gehört, ist endlich noch zu erwähnen die Untersuchung des zirkulierenden Blutes selbst auf seinen Blutfarbstoffgehalt, die Hämoglobinometrie, da es sich ja, wie erwähnt, tatsächlich auch in den andern Fällen um eine Untersuchung auf Blutfarbstoff handelt.

Die Hämoglobinometrie allein ist in der Lage, sich auf

die im Vergleich mit anderen Farbstoffen immerhin schwache Färbekraft des Blutes zu stützen, wobei es zum Teil üblich ist, das Oxyhämoglobin des strömenden Blutes in das haltbarere Kohlenoxydhämoglobin überzuführen oder bei dem vielleicht gebräuchlichsten, dem Sahlischen Apparat, in das weniger weißliche Hämatin. Die angewandte Methodik läuft auf eine colorimetrische Vergleichung hinaus, die der Kleinheit der ohne Belästigung zu entnehmenden Blutmenge und der geringen Färbekraft des Blutes angepaßt ist. Da die Schärfe der Methode nicht recht befriedigt, habe ich im Verein mit Erich Schlesinger versucht, durch das Prinzip des Farbenkontrastes einen befriedigenden Farbenumschlag einzuführen — nachträglich sehe ich, daß dieses Prinzip unseres Kontrasthämoglobinometers bereits von Oswald in seinem physikalisch-chemischen Praktikum angedeutet wurde.

Für ganz exakte Untersuchungen jedoch wird eine andere Farbstoffeigenschaft des Hämoglobins benutzt als die direkte Färbung, nämlich die Absorption des Lichtes von bestimmter Wellenlänge, wie sie mittels des Spektroskops aufgedeckt wird; für quantitative Zwecke ist sie zur Spektrophotometrie ausgebildet worden.

Die spektroskopische Untersuchung findet außerdem weitgehende Anwendung in der gerichtlichen Medizin und wird vielfach auch für die Zwecke der inneren Medizin bevorzugt.

Früher galt diese Methode als unübertrefflich an Schärfe. Nach Hammarsten ist es möglich, mittels ihrer Konzentrationen von einem Zwanzigtausendstel nachzuweisen. Mit einem geradsichtigen Taschenspektroskop von Schmidt und Haensch konnte ich mit der Absorption selbst unter günstigen Bedingungen (verdunkeltes Zimmer, parallelwandiger Trog aus Spiegelglas von 1,5 cm lichter Weite, Metallfadenlampe in großer Nähe, Abblendung des Seitenlichtes) nicht weiter kommen als bis zur Erkennung der Streifen in einer durch ihre Färbung noch auffälligen Blutkonzentration. Rechnet man allerdings auf reines Hämoglobin um, so komme ich dem angegebenen Wert nahe, aber für eine Bestimmungsmethode für Blut ist diese Schärfe mit einer Grenze bei 1:2000 nicht groß genug. Es ist ja nun richtig, daß man bei Verwendung von Hämochromogen Besseres leistet. Die Methodik ist auch gerade im laufenden

Jahr weiter vereinfacht und verbessert worden, so daß Snapper[1]) sie auch für die Untersuchung von Stuhl empfehlen zu sollen glaubt, wie er sie denn in einer großen Anzahl von Fällen angewandt hat. Allein die Umständlichkeiten sind noch immer für praktische Zwecke viel zu groß.

Als ausreichend feine und bequeme Methoden des Blutnachweises haben sich hingegen die chemischen Methoden ihren Platz erworben.

Am einfachsten unter ihnen ist die direkte Beobachtung der Wasserstoffsuperoxydzersetzung, wie sie vor längerer Zeit gerade für die Stuhluntersuchnng einmal empfohlen worden ist — es ist mir leider nicht möglich gewesen, die Arbeit in der Literatur ausfindig zu machen. Späterhin wurde sogar ein besonderes Verhalten des menschlichen Blutes bei der Superoxydspaltung behauptet.

Im übrigen ist die Methode durchaus nicht fein genug, da sie nur gestatten soll, bei alkalischer Reaktion eine 2000-fache Blutverdünnung zu erkennen.

Bei allen andern zur Erkennung des Blutes vorgeschlagenen Proben spielt das Superoxyd eine Rolle nur als Sauerstoffquelle, wie schon daraus hervorgeht, daß für manche derselben wenigstens auch andere Sauerstoffquellen, z. B. das an der Luft gestandene Terpentinöl, eintreten können.

Dies ist vor allem der Fall bei der ältesten Blutreaktion, der van Deenschen Guajacreaktion. Sie ist die erste in der Reihe der sogenannten katalytischen Oxydationen und noch immer die meist angewandte, für den Urin direkt, für den Stuhlgang in der Müller-Weberschen Modifikation.

Die katalytischen Reaktionen auf Blut besitzen nämlich sämtlich den Nachteil, daß sie der Spezifität ermangeln; insbesondere sind außer gewissen für die einzelnen Reaktionen verschiedenen anorganischen Stoffen die an den Fundorten des okkulten Blutes vorkommenden sogenannten Oxydationsfermente imstande, die Rolle eines Sauerstoffüberträgers zu übernehmen. Daran ist nichts besonders Auffälliges, wenn man sich auf den jetzt herrschenden Standpunkt stellt, in den früher sogenannten

[1]) J. Snapper, Der spektroskopische Nachweis von Blut in den Faeces. Berl. klin. Wochenschr. 1916, 35.

Oxydasen Superoxyde zu erblicken. Aus diesem Grunde ist es ein so wichtiger Fortschritt gewesen, daß Weber auf Grund der chemiscben Eigenschaften des Hämatins dieses von den wichtigsten störenden Stoffen getrennt hat, indem er den Ätherextrakt einer essigsauren Lösung benutzte. Bei dieser Behandlung verliert z. B. sogar blutfreier Eiter seine Wirkung auf die Guajacterpentinmischung. Ich halte diese Benutzung des Ätherextraktes für so wesentlich, daß ich mich nicht entschlossen habe, bei den andern zur Wahl stehenden Reaktionen auf sie zu verzichten, wenn auch durchaus zugegeben werden kann, daß z. B. die Verwendung der Kochhitze u. a. unter Umständen ähnlich wirken kann.

Ganz unstreitig übertreffen die modernen Reaktionen die Guajacprobe wesentlich an Schärfe. Da sie zum Teil wenigstens an einem großen Material ausgeprobt und frei von erheblichen Fehlerquellen befunden worden sind, auch ihre Methodik eine nicht allzu mühsame ist, so sind sie neben oder sogar vor ihr anzuwenden. Mit diesem Satze ändere ich meinen an verschiedenen Orten ausgedrückten Standpunkt nur insofern, als der Entwicklung der Dinge Rechnung getragen wird und das, was als möglich angekündigt wurde, jetzt Wirklichkeit geworden ist.

Nicht recht verständlich ist es mir, wenn von vielen Autoren gerade in der größeren Feinheit der Reaktionen ein Einwand gegen sie hergeleitet wird. Gegen zu große Feinheit hat sich noch immer in stärkerer Verdünnung ein ausgezeichnetes Gegenmittel gefunden. Ich kann nur sagen, daß die größere Feinheit der anderen Reaktionen mir sowohl zur Aufdeckung von okkultem Blut wie auch zur Verfolgung seines Verschwindens sich unentbehrlich gemacht hat.

Die von mir regelmäßig benutzte Reaktion ist die Benzidinreaktion gewesen, die ursprünglich angegeben von den Brüdern Adler, von Emmo Schlesinger und Holst sowie von W. Löb modifiziert worden ist. Die auf Anregung des letzteren hergestellten gleichmäßigen Tabletten (von Gödecke in Berlin) machen die Reaktion recht handlich. Hat man bloß eine Reaktion auszuführen, so kann man sehr gut auch die Tabletten vierteilen mit Zange oder Schere. Statt des von Schlesinger und Holst empfohlenen Kochens eines dünnen wäßrigen Stuhlextraktes benutze ich, wie erwähnt, neuerdings

einfach den essigsauren Ätherextrakt. Ich habe den Eindruck, daß man dadurch weniger Versager erzielt, teils weil die Reaktionen viel intensiver ausfallen, teils wohl auch, weil die unbekannten hemmenden Stoffe nicht leicht in den Ätherextrakt übergehen.

Daneben bediene ich mich der Phenolphthalinprobe von Erich Meyer, die ursprünglich als bloßer Ersatz für die Guajacreaktion ganz beiläufig angegeben, nach einigen Jahren in ihrer großen Schärfe erkannt, zuerst für die Untersuchung von Urinen besonders in Frankreich vielfache Anwendung fand bis sie dann von Boas als Reagens für okkulte Blutung im Stuhl empfohlen und einer Reihe von Modifikationen und Verfeinerungen unterworfen wurde. Da indessen gegen diese Einwendungen erhoben werden, die schon darum einer Berechtigung nicht zu ermangeln scheinen, weil die Methode immer weiter umgestaltet wird, so habe ich mich bis zu einer etwaigen definitiven Ausgestaltung entschlossen, genau den Angaben von E. Meyer zu folgen und eine durch Kochen mit 10 g Zinkstaub entfärbte Lösung von 2 g Phenolphthalein in 100 ccm 20 $^0/_0$ iger Kalilauge zu verwenden. Diese Lösung hält sich gut, man kann auch zweckmäßig etwas Zinkstaub darin lassen. Davon versetze ich 1 ccm mit einem Tropfen käuflicher Superoxydlösung und füge einige Tropfen sauren Ätherextraktes hinzu und verteile sie durch Umschwenken. Phenolphthalin ist auch käuflich, doch enthält es Phenolphthalein als Verunreinigung und muß also doch reduziert werden.

Neben diesen Reaktionen benutzte ich bis vor kurzem wenigstens immer noch die Guajacreaktion, doch wende ich sie jetzt nicht mehr regelmäßig an, weil sie bei nicht relativ erheblichen Blutmengen doch negativ ausfällt, weil sie ferner wegen der harzigen Beschaffenheit sowohl des Guajacharzes selbst wie auch des verwendeten Terpentinöls wenig reinlich ist; es kommt hinzu, daß Terpentinöl nicht mehr so bequem erhältlich ist wie früher und daß allzuviel auf seinen Oxydationszustand ankommt.

Auch das Verhältnis der Intensitäten zwischen den beiden anderen Reaktionen ist sehr wechselnd, wenn auch im ganzen die Benzidinprobe mit dem Ätherextrakt die weitaus intensivere ist.

Auch sonst bestehen einige Verhältnisse, die einem den Besitz einer weiteren Reaktion auf Blut wünschenswert erscheinen lassen.

Das Wesen einer katalytischen Reaktion besteht bekanntlich darin, daß eine im Verhältnis zu den miteinander in Reaktion tretenden Substanzen geringe Menge einer dritten Substanz vorhanden ist, die im Endprodukt nicht erscheint, bei der Reaktion mithin nicht verbraucht wird. Dabei ist es gleichgültig, ob sie entsprechend der Kontakttheorie durch ihre bloße Gegenwart, z. B. durch ihre Oberflächeneigenschaften, mitwirkt oder gemäß der entgegenstehenden Theorie in ein sich immer wieder zersetzendes Zwischenprodukt eintritt. Man sollte daher denken, daß die Reaktion entweder innerhalb einer gegebenen kurzen Zeit bis zum Ende verliefe, oder aber, wenn sie längere Zeit fortdauert, ceteris paribus um so länger braucht, um eben sichtbar zu werden resp. einen bestimmten Grad zu erreichen, je weniger von der katalysierenden Substanz vorhanden ist.

Merkwürdigerweise trifft dies für keine der hier angeführten Reaktionen zu.

Was zunächst die Guajacprobe anbetrifft, so ist es bekannt, daß oft mehrere Minuten verstreichen, bis sie sichtbar wird — dies ist sogar dann der Fall, wenn sie eine intensive Bläue erreichen wird. Damit ist aber nicht etwa gesagt, daß sie nun auch bestehen bleibt, im Gegenteil, wieder nach einigen Minuten verschwindet sie ganz von selbst. Es kann also sehr wohl eine gut positiv ausgefallene Probe der Aufmerksamkeit entgehen, wenn man sich nebenbei mit anderen Dingen zu beschäftigen hat, wie dies doch für die ärztliche Sprechstunde die Regel ist. Auch kann ja Auftreten und Verschwinden des gefärbten Reaktionsproduktes, des sog. Guajacblaus, gleichen Schritt halten oder letzterer Prozeß die größere Geschwindigkeit haben — alsdann würde die Reaktion, die eigentlich hätte positiv ausfallen sollen, negativ bleiben.

Alles Gesagte gilt auch für die Benzidinprobe, nur daß man bei ihr wenigstens durch den Anblick eines bräunlichroten Farbentons darüber aufgeklärt wird, wenn die Zeit für die Beobachtung verpaßt ist.

Während bei den genannten beiden Proben aus bekannten

Substanzen, der Guajaconsäure und dem Benzidin, gefärbte. aber wenig bekannte Reaktionsprodukte entstehen, die nach ihrer blauen Färbung genannt werden, so ist bei der Phenolphthalinprobe das Ausgangsmaterial, das Phenolphthalin, wie das gefärbte Reaktionsprodukt, das Phenolphthalein, die bekannte Indicatorsubstanz, chemisch wohl definiert. Doch wäre es ein Irrtum anzunehmen, daß der Reaktionsablauf darum ein ganz anderer wäre. Das Auftreten der Rotfärbung dauert gleichfalls eine wenn auch kürzere Zeit, und ein (wenigstens hinsichtlich der Färbung) entgegengesetzt gerichteter Prozeß macht sich von vornherein geltend.

Alle die angeführten Proben sind daher nur qualitativ und können höchstens eine ganz grobe Orientierung über die quantitativen Verhältnisse gewähren.

Es ist daher verständlich, wenn man immer wieder andere, wenn auch auf ähnlichen Prinzipien beruhende Reaktionen suchte, um die genannten Übelstände zu vermeiden und auch nach der quantitativen Seite hin weiterzukommen. Ich erinnere mich noch recht wohl, wie kurze Zeit, nachdem er auf die Meyersche Probe hingewiesen hatte, Boas gelegentlich einer kurzen Publikation von mir über okkulte Blutungen mich aufforderte, doch eine quantitative Bestimmung des okkulten Blutes auszuarbeiten.

Nun war eine derartige Probe in der Tat bereits angegeben worden von Michel[1]). Sie ist bestätigt worden von Th. Lochte und A. Fiedler[2]).

Weitere Beachtung hatte sie nicht gefunden, und von unseren großen klinischen Wochenschriften hat nur die Deutsche medizinische ihrer Erwähnung getan.

Es handelt sich um die Verwendung der Leukobase des Malachitgrüns.

Dieser Probe wurden nachgerühmt eine große, für gerichtlich-medizinische Zwecke ausreichende Schärfe, ferner eine annähernd der Blutmenge proportionale Intensität, und endlich interessierte mehr theoretisch die darauf gegründete Behaup-

---

[1]) Michel, Über forensisch-medizinischen Blutnachweis mittels der Leukomalachitgrünbase. Chem.-Ztg. **1911**, Nr. 43, 389.

[2]) Th. Lochte und A. Fiedler, Das Leukomalachitgrün als Reagens auf Blutfarbstoff. Ärztliche Sachverständigenzeitung **1913**, Nr. 21.

tung, es liege eine chemische Verbindung des Hämoglobins vor, wofür als weitere Stütze angeführt wurde, sein Spektrum verschwinde bei dem Auftreten der Reaktion. Offenbar war angenommen worden, um in der Sprache der Immunochemie zu reden, das Hämoglobin werde von der Leukobase fixiert und dadurch befähigt, dieselbe mit seiner oxyphoren Gruppe zur Farbbase umzuwandeln. Damit würde diese Reaktion allerdings aus der Reihe der katalytischen heraustreten und eine chemische Reaktion auf Hämatin werden.

Die Nachprüfnng der Michelschen Reaktion, die größtenteils in dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie ausgeführt wurde, ergab im allgemeinen eine Bestätigung der von den Autoren gemachten Angaben. Insbesondere zeigt sich auch bei Verwendung der von Lochte bevorzugten Lösung, daß eine Proportionalität, und zwar nicht nur eine angenäherte, sondern eine völlig exakte, besteht zwischen der Blutmenge und der erreichten Farbenintensität — benutzt wurde ein Colorimeter von Krüß bei gutem Tageslicht.

Da die Blaufärbung des käuflichen Leukomalachitgrüns (Kahlbaum) immerhin merklich ist und bei der vorgeschriebenen stark essigsauren Lösung zugesetzter Zinkstaub allzu reichlich Wasserstoff entwickelt, gingen wir zur Verwendung einer neutralen alkoholischen, durch Kochen mit Zinkstaub entfärbten Lösung über, die vollkommen weiß wird und sich im geschlossenen Glas leidlich farblos aufbewahren ließ.

0,1 g Leukomalachitgrün (Kahlbaum) wurden mit 25 ccm Alkohol und Zinkstaub gekocht, um die leichte Blaufärbung zu zerstören. Diese alkoholische Lösung diente als Stammlösung, und es wurde aus ihr für den Versuch eine der von Lochte angegebenen ähnliche Lösung hergestellt, indem gleiche Teile Eisessig und alsdann ein doppeltes Volum Wasser hinzugefügt wurde.

Die weitere Vorschrift von Lochte und Fiedler lautet dahin, zu 2 ccm ihrer Lösung 9 ccm der zu untersuchenden Blutverdünnung und 7 bis 10 Tropfen einer einprozentigen Wasserstoffsuperoxydlösung hinzuzufügen.

Nach etwa 10 Minuten ist die Reaktion vollendet, und es tritt auch bei stundenlangem Stehen keine merkliche Zunahme der Blaufärbung ein.

Was die Empfindlichkeit der Reaktion anbetrifft, so darf man sich keine übertriebenen Vorstellungen von ihr machen. Viel weiter als 1:20 000 auf reines Menschenblut berechnet geht sie nicht — benutzt wurde aus der Fingerbeere frisch entnommenes, in der Capillarpipette abgemessenes Blut, dessen Hämoglobingehalt als normal („hundertprozentig") bekannt war.

Mit Trockenblut (vom Rinde) ergab sich eine Empfindlichkeit von etwas mehr als 100000, was unter Berücksichtigung des Wassergehaltes normalen Rinderblutes auf denselben Wert führt.

Die ursprünglich angegebene große Empfindlichkeit der Reaktion gegenüber einem Überschuß von Wasserstoffsuperoxyd vermochten wir nicht zu bestätigen. Im Gegenteil blieben die Resultate die gleichen, auch als wir $25\,^0/_0$ige Superoxydlösung verwendeten.

In der Siedehitze gibt Wasserstoffsuperoxyd auch in Abwesenheit von Blutspuren Blaufärbung. Dies stellt im Grunde nichts vor als eine Beschleunigung der sich in der Kälte im Laufe von Tagen einstellenden Blaufärbung entsprechend der bekannten reaktionsbeschleunigenden Wirkung der Temperaturerhöhung. Es handelt sich eben wahrscheinlich um eine katalytische Reaktion, d. h. die Beschleunigung einer an sich schon vonstatten gehenden Reaktion durch die Anwesenheit bestimmter Kontaktsubstanzen.

Es gelingt nun durch Arbeiten in alkoholischer Lösung, diese von selbst vorgehende, sozusagen unspezifische Bläuung zu hemmen, ohne daß darum die katalytische oder spezifische Bläuung durch Blut beeinträchtigt wird.

Als geeignete Lösung wurde ausprobiert eine durch Kochen mit Zinkstaub entfärbte Lösung von 0,1 g Leukomalachitgrün in 50 ccm siedendem Alkohol. Nach dem Abgießen vom Zinkstaub wird die Lösung versetzt mit 2 ccm Eisessig. Diese Lösung kann mit dem gleichen Volum der auf Blut zu untersuchenden Lösung versetzt werden, ohne daß darum die Empfindlichkeit geringer ist als angegeben. Auf (je) 2 ccm gibt man einen Tropfen Superoxydlösung, ohne daß es auf große Vorsicht ankommt. Durch Verwendung kleiner Flüssigkeitsvolume wird man damit den vom Erfinder gerühmten Nachweis von einem 1000stel Milligramm erreichen können.

Dennoch läßt, wie gesagt, der Empfindlichkeitsgrad der Reaktion erheblich zu wünschen übrig, und es ist nicht ohne weiteres sicher, ob sie zum Nachweis von Blut in Stuhl und Urin verwendbar ist.

Der Versuch ergibt, daß dies nicht der Fall ist.

Was zunächst den Urin anbetrifft, so könnte man annehmen, daß seine Gelbfärbung störend sei, da ja Blau und Gelb Komplementärfarben sind.

Allein das Blau des Malachitgrüns neigt, wie sein Name sagt, nach der Seite des Grünen, infolgedessen wird bei Vermischung mit einer gelben Farbe die gewöhnliche Wirkung einer Mischung von blauen und gelben Pigmentstoffen eintreten, eine Grünfärbung. Der Versuch ergibt in der Tat, daß nachträgliche Hinzufügung eines gleichen Volums Urin eine eingetretene Blaufärbung in ein schönes, leicht erkennbares Grün umwandelt. Ganz anders aber, wenn man die Reaktion an bluthaltigem Harn ausführen will. Selbst bei einem Trockenblutgehalt 1:10000 fällt die Reaktion negativ aus, mit anderen Worten: selbst eine Blutmenge von einem 2000stel der Harnmenge entzieht sich dem Nachweis. Dieser orientierende Versuch genügt, um die vollkommene Unbrauchbarkeit der Malachitgrünprobe für die Zwecke der Urinuntersuchung auf Blut nachzuweisen. Ob diese Hemmung bei allen Urinen gleich ist, auf welchen Bestandteilen des Harns sie beruht usw., sind Fragen, die nicht verfolgt wurden, ohne daß damit gesagt werden soll, daß sie allen Interesses entbehren.

Wir erinnern in dieser Hinsicht an die gegenwärtig viel gebrauchten bzw. erörterten Reaktionen des Urins mit Permanganat unter Entfärbung und Methylenblau unter Grünfärbung.

Ganz ähnlich steht es mit der Verwendbarkeit der Probe für den Nachweis okkulten Blutes im Stuhl. Wohl habe ich Gelegenheit gehabt, Stühle zu untersuchen, die eine Reaktion mit Leukomalachitgrün gaben, und konnte anderseits mich überzeugen, daß Extrakt aus normalen Faeces, gleichviel ob alkoholisch oder ätherisch, eine solche Reaktion nicht gibt — aber die Auswertung der Empfindlichkeit ergab auch in diesem Fall, daß sie unter der zulässigen Grenze weit zurückbleibt. Denn als 2,4 g blutfreien Stuhles mit 0,2 ccm einer

1 $^0/_{00}$igen (also stark roten!) Trockenblutlösung versetzt wurden, ergab der durch Verreiben mit 7,2 ccm eisessighaltigen Alkohols erhaltene Extrakt keine Andeutung einer Färbung. Dabei war die Gelbfärbung dieses Extraktes so ausgesprochen, daß sie vermutlich doch eine positive Reaktion stark verdeckt haben würde. Was die als Fehlerquellen angeführten anderen Substanzen anbetrifft, so habe ich mich nicht überzeugen können, daß Eisensalze oder Cyankali in mäßiger Menge eine Blaufärbung bewirken, ebensowenig Speichel. Versuche mit Galle und Sperma anzustellen, hielt ich daraufhin nicht mehr für erforderlich.

Fassen wir unsere Beobachtungen über die Leukomalachitprobe auf Blut noch einmal zusammen, so haben wir in ihr eine Probe von mäßiger Empfindlichkeit, die für den Nachweis geringer Mengen wenig verunreinigten Blutes eine Reihe von Vorzügen besitzt: die Reaktion hält sich einige Zeit auf gleicher Höhe; diese Höhe ist direkt proportional der vorhandenen Blutmenge; Täuschungen durch fremde Substanzen scheinen kaum in Betracht zu kommen. Durch die Einführung der Reduktion in alkoholischer Lösung mit Zinkstaub und Aufbewahrung in dieser Form, wobei eventuell die Reduktion wiederholt werden kann, läßt sich die Reaktion verbessern und ihre Spezifität erhöhen.

Anderseits ist die Reaktion so empfindlich gegen Verunreinigungen organischer Natur, z. B. Urin, daß unter Umständen ihre Verwendbarkeit zu den Zwecken, für die sie angegeben ist, die forensisch-medizinischen, fraglich werden kann.

Die Ausdehnung ihrer Verwendbarkeit auf die innere Medizin hat sich als untunlich erwiesen. Weitere Bemühungen in dieser Richtung erübrigen sich aber auch, weil der Vorteil des proportionalen Ausfalls der Reaktion wegen der Veränderung des Farbentons durch die in wechselnder Menge in den Exkreten erscheinenden eigenen Farbstoffe eine Vergleichung verbietet.

Nur für die Aufgaben der Hämoglobinometrie scheint die Reaktion Vorteile zu bieten, da die Colorimetrie in satterer Lösung und in größeren Flüssigkeitsquanten ausgeführt werden,

der allgemein üblichen Methodik also besser angepaßt werden kann. Zwecks Ausschließung von Fermentwirkungen wird sich auch für diesen Fall das Arbeiten in alkoholischer Lösung am meisten empfehlen.

Wir haben uns durch dieses, wenigstens für die Erkennung der okkulten Blutungen negative Ergebnis nicht abhalten lassen, nachzuforschen, ob nicht die Vorzüge des Malachitgrüns sich bei einem anderen Stoffe wiederfänden, gepaart mit befriedigenderer Empfindlichkeit und frei von den mehr als zufällig angesehenen überstarken Hemmungen.

Insbesondere schien es uns ein glücklicher Gedanke zu sein, einmal einen (in jedem Sinn) echten Farbstoff anzuwenden, der nicht von selbst sich wieder entfärben kann.

Nachdem die Reduktion von Methylviolett und Methylgrün sich als zu wenig haltbar gegenüber dem Einfluß der Luft erwiesen hatte, wurde diejenige des Pararosanilins ausgeführt — allein diese Leukoverbindung erwies sich gegenüber dem System Superoxyd Blut als vollkommen widerstandsfähig.

Weitere Versuche wurden außerhalb der Gruppe der Triphenylmethane angestellt in der verwandten Gruppe der Phthaleine, zu denen auch das Phenolphthalein gehört, und das von Fleig vorgeschlagene Fluoresceïn sowie das ebenfalls schon einmal empfohlene Eosin.

Unter den vom letzteren sich ableitenden Farbstoffen basischer Natur wurden mehrere geprüft. Einige schieden sogleich aus, weil eine Beeinflussung durch das System Blut-Superoxyd nicht merklich eintrat.

Auch der Rose Bengale genannte Farbstoff, Alkalisalze des Tetrajod bzw. Tetrachlorfluorescein erfüllte die Erwartungen nicht ganz. Es entstand zwar ein haltbares Reduktionsprodukt von geringer, wenig störender bräunlicher Färbung, das durch Blutlösung und Wasserstoffsuperoxyd prachtvoll rot wurde, allein diese Färbung trat bloß mit den höheren Konzentrationen der Trockenblutlösung ein, bereits 1 : 10000 reagierte nicht mehr ausreichend.

Offenbar ist dieser Farbstroff trotz seiner Schönheit zu schwach für unsere Zwecke.

Hingegen fand sich in dem sogenannten Rhodamin B

$(C_2H_5)_2N$ — — O — — $= N(C_2H_5)_2Cl$

— C =

— CO_2H

extra ein Farbstoff, der nach Überwindung einiger technischen Schwierigkeiten wohl allen billigen Ansprüchen gerecht werden dürfte.

Das Rhodamin ist ein sehr intensiver Farbstoff, so daß man beim Arbeiten mit ihm und noch mehr mit seinem ungefärbten Phthalin schon ein wenig aufpassen muß, wenn man keine roten Hände bekommen will — beiläufig gesagt, sind derartige Erfahrungen ganz erziehlich und lehrreich hinsichtlich der Entstehung und Verbreitung von Infektionen bei dem, was man gemeinhin sorgsamstes Vorgehen nennt.

Man löst von diesem Farbstoff 0,2 g in 50 ccm Alkohol in einem nicht zu breiten Erlenmeyer.

Es entsteht eine prachtvoll lichtrote Lösung von starker Fluorescenz. Beim Kochen macht diese einem mehr dunkellila aussehenden Ton Platz. Nun fügt man 5 g Zinkstaub und 4 ccm 10%ige Natronlauge hinzu und schwenkt um. Bei weiterem Sieden erfolgt die Entfärbung augenblicklich. Die Verluste sind nicht größer, als daß man nun eine 4‰ige Lösung hat, die in dem gleichen nach dem Erkalten verkorkten Gefäß aufbewahrt wird; jedenfalls ist es richtiger, ein durchsichtiges als ein dunkles Glas zu verwenden. Die Empfindlichkeit dieser Lösung gegen Blut steht wohl keiner der beschriebenen Reaktionen nach. Bei Verwendung gleicher Volumina und Zusatz eines Tropfens der üblichen, etwa 3%igen Superoxydlösung gibt eine Trockenblutlösung 1:10000000 noch eine schöne Rotfärbung — da dies einer Blutverdünnung von 1 zu 2000000 entspricht, so habe ich es dabei bewenden lassen, wenn ich auch überzeugt bin, daß man mit der Verdünnung noch weiter gehen könnte. Damit ist die Empfindlichkeit der Malachitgrünprobe ums reichlich Hundertfache übertroffen. Der Vorzug der Reaktion besteht darin, daß sie nicht wie die an-

dern aufgeführten Reaktionen eine Inkubationszeit hat, vielmehr tritt sie sofort ein.

Ihre Stärke ist, so weit es sich überblicken läßt, proportional der Blutmenge, wobei es angenehm auffällt, daß auch die konzentrierten Blutlösungen von einem Trockengehalt 1 auf 1000 nicht etwa tiefdunkel und unbeurteilbar sind, sondern sehr wohl eine Abschätzung zulassen.

Die Reihe hält sich auch eine ganze Zeitlang unverändert. Bei längerem Warten allerdings wird auch eine Kontrollprobe etwas rötlich — aber man hat ja nicht nötig, immer wieder einen besorgten Blick auf die Proben zu werfen, wie bei anderen katalytischen Blutreaktionen, da der erste Anblick uns alles sagt, was wir zu wissen verlangen.

Um ganz sicher zu gehen, schlage ich folgendes Vorgehen vor: Von der vorrätigen alkoholischen Lösung gießt man, soviel man braucht, nach Aufwirbeln von so viel Zinkstaub, daß die Lösung grau erscheint, in ein Reagierröhrchen und kocht an der Flamme auf, was ja bei dem niederen Siedepunkt des Spiritus im Augenblick geschehen ist. Dies genügt zur Entfärbung der Lösung. Diese Lösung wird zu gleichem Volumen der zu untersuchenden, bereits mit einem Tropfen Superoxyd (käuflich) versetzten Lösung hinzugefügt, je 1 ccm genügt; man kann auch sehr viel weniger der Untersuchungsflüssigkeit nehmen. Eine Graufärbung durch Zinkstaub stört die Erkennung der Rotfärbung nicht.

Handelt es sich um Urin, so ist weiter nichts zu bemerken.

Der Urin hemmt die Reaktion, wie es scheint, überhaupt nicht in nennenswertem Maße. Wenigstens unterschied sich eine mit Urin von einem Blutgehalt 1 : 500000 angesetzte Reaktion nicht von der Kontrolle mit wäßriger Lösung.

Handelt es sich um Faeces, so muß man berücksichtigen, daß die vorgeschriebene Lösung nur schwach alkalisch ist und daß beim Ansäuern derselben unter Umständen eine Rot- oder vielmehr Blaurotfärbung eintreten kann, die beim Neutralisieren übrigens wieder schwindet.

Aus diesem Grunde ist es vorsichtiger, erstens die Extrakte nicht allzu sauer zu machen, und zweitens in das zu ihrer Aufnahme bestimmte Glas erst einen Tropfen Natron-

lauge zu tun und umzuschwenken. In diese Mischung gibt man auch den Tropfen Superoxyd, da auch die Superoxydlösung sauer ist. Hierauf endlich kommt die Rhodaminlösung.

Aus äußeren Gründen ist es mir noch nicht möglich, anzugeben, wie weit die Empfindlichkeit der Rhodaminlösung gegen Blutgehalt der Faeces geht. Soviel konnte indessen festgestellt werden, daß Faecesextrakt an sich die Reaktion nicht gibt; es ist nicht zu bezweifeln, daß er sie im Gegenteil hemmen wird, doch ist diese Hemmung keine anomale und hat nie verhindert, daß Proben, die sich gegen andere Proben positiv verhielten, auch auf die Rhodaminprobe reagierten.

Ich glaube, daß die Rhodaminreaktion für die Zwecke des Blutnachweises in der Inneren Medizin empfohlen zu werden verdient.

Für die Urinuntersuchung erscheint sie hervorragend geeignet. Für die Stuhluntersuchung wird es sich zunächst bis zur Aufdeckung etwaiger Fehlerquellen empfehlen, den Ätherextrakt zu verwenden, wenn auch angenommen werden darf, daß zu Fehlern Anlaß gebende Beimengungen in den sauern Alkohol nicht übergehen oder in der stark alkoholischen Lösung die beim Zusammentreffen des alkoholischen Extraktes mit dem alkoholischen Reagens entsteht, keine Wirkung ausüben können (Fermente).

Doch scheint ersteres Vorgehen das rationellere, und es bleibt fraglich, ob man sich überhaupt bei irgendeiner Blutprobe von ihm entfernen soll. Von einem gewissen Interesse bleibt auch die Feststellung, daß nicht etwa jede Oxydation, nicht einmal in der gleichen chemischen Gruppe, durch Blut katalysiert wird. Insofern kann eine Kontrolle der einen Farbprobe durch die andere immerhin von Interesse sein — als ausreichend verschieden würde dann die bei stark saurer Reaktion sich abspielende Benzidinreaktion neben der bei neutraler bis alkalischer Reaktion vor sich gehenden Rhodaminprobe anwendbar sein. Eventuell käme als weitere Kontrolle noch hinzu die Probe mit Leukopararosanilin, das nicht gefärbt werden darf.

DIE ARBEITEN DIESES HEFTES BILDEN DEN SCHLUSS DES FESTBANDES DER BIOCHEMISCHEN ZEITSCHRIFT,

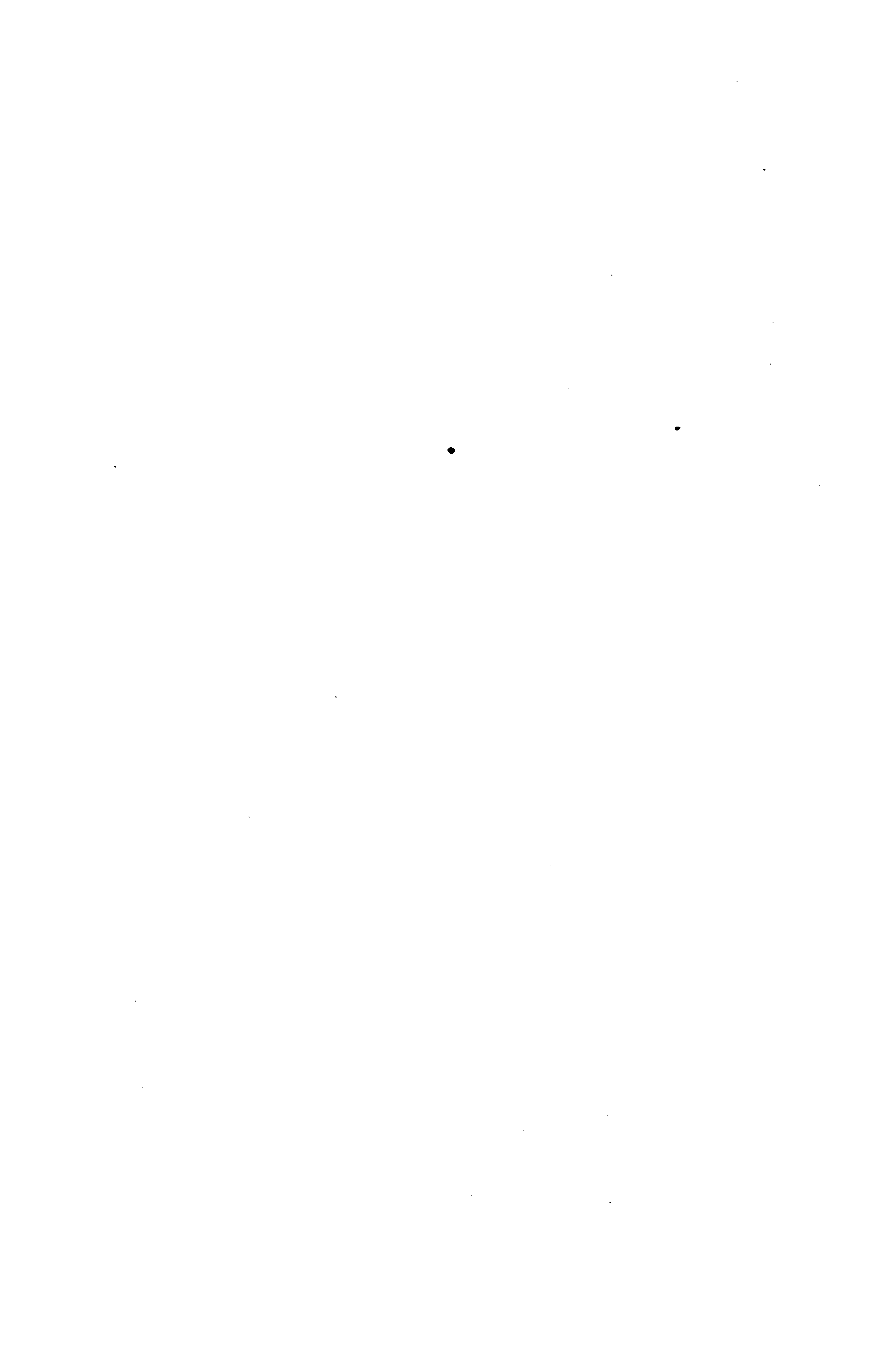
HERRN GEH. MED.-RAT

PROFESSOR DR. JOHANNES ORTH

ZUR FEIER SEINES 70. GEBURTSTAGES

AM 14. JANUAR 1917

GEWIDMET.



Über die spezifische Desinfektionswirkung der Chinaalkaloide.

Von

J. Morgenroth und J. Tugendreich.

(Aus der Bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 6. Dezember 1916.)

Der Feststellung der spezifisch chemotherapeutischen Wirkung einer zur Klasse der Chinaalkaloide gehörigen Verbindung, des Äthylhydrocuprein (Optochin), bei der Pneumokokkeninfektion der Maus[1]) folgte bald die Aufklärung des Grundprinzips dieser überraschenden Erscheinung. A. E. Wright[2]) stellte zuerst fest, daß dem Optochin in vitro eine außerordentlich hohe Desinfektionswirkung gegenüber dem Pneumokokkus zukommt, daß diese auch in Blutserum stattfindet; sie erscheint mächtig genug, um in der Hauptsache als zureichende Erklärung des Erfolgs im Tierversuch angesehen zu werden. Wrights Befunde wurden vielfach bestätigt, so von Neufeld und Schiemann[3]), Schiemann und Ishiwara[4]), Morgenroth und Bumke[5]) u. a., neuerdings von Moore[6]). Das Prinzip der Desinfektionswirkung fand außerdem in der Praxis mannigfache Bestätigung bei der erfolgreichen Behandlung des Ulcus serpens

---

[1]) Morgenroth und Levy, Berl. klin. Wochenschr. **1911**, Nr. 34 und 44. Siehe Zusammenstellung der Literatur bis Ende 1914 bei Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. **1914**, Nr. 47/48.

[2]) Wright, Lancet **1912**, 14. und 21. Dezember.

[3]) Neufeld und Schiemann, Centralbl. f. Bakt., I. Abt.; Ref. **57**, 1913, Beiheft.

[4]) Schiemann und Ishiwara, Zeitschr. f. Hygiene, **77**, 1914.

[5]) Morgenroth und Bumke, Deutsche med. Wochenschr. **1914**, Nr. 11.

[6]) Moore, Journ. of experim. med. **22**, Nr. 3, 1. September 1915.

corneae und bei der in ausgedehntem Maße geübten Desinfektion des pneumokokkenhaltigen Bindehautsacks vor Operationen am Auge, die nichts anderes darstellen, als die auf experimenteller Basis beruhende, zum erstenmal gelungene Durchführung des alten Listerschen Postulats der chemischen Wunddesinfektion und der Vorbereitung des Operationsfeldes.

Aus den Desinfektionsversuchen in vitro ließ sich der Schluß ziehen, daß höchstwahrscheinlich durch diese einfache Versuchsanordnung schon Anhaltspunkte für das chemotherapeutische Verhalten der zahlreichen in den Kreis der Untersuchungen gezogenen Chininderivate zu gewinnen seien und daß hier dem Reagensglasversuche bis zu einem gewissen Grade eine Führerrolle zukomme. Morgenroth und Bumke (l. c.) stellten in dieser Richtung im Anschluß an frühere Versuche von Tugendreich und Russo[1]) in unserem Laboratorium systematische Versuche an, aus denen u. a. hervorging, daß in der homologen Reihe des Hydrocupreins, der das Hydrochinin, Äthylhydrocuprein usw. angehören, auch in vitro der Desinfektionswirkung des Äthylhydrocupreins (Optochin) die dominierende Stellung zukommt und daß auch das Verhalten der übrigen Verbindungen dieser homologen Reihe im Tierversuch mit dem Versuch im Reagensglas in Einklang steht.

Es braucht kaum besonders hervorgehoben zu werden, welche methodische Erleichterung es bedeutet, wenn der Reagensglasversuch als eine vollwertige Vorstufe des Tierversuchs eintreten kann. Er macht den letzteren natürlich nicht entbehrlich, steht ihm vielmehr an Wert keineswegs gleich; schon die Ausschaltung des Moments der „Organotropie“ im Reagensglasversuch weist klar darauf hin, daß er eben nur die Orientierung für den Tierversuch liefert, soweit die Chemotherapie im eigentlichen Sinne, die innere Desinfektion, in Betracht kommt. Innerhalb einer abgegrenzten Klasse chemischer Verbindungen ist er schon deshalb von großer Bedeutung, weil er die Einflüsse „dystherapeutisch“ wirkender Veränderungen der Verbindungen — vielfach substitutiver und das Grundgefüge des Moleküls nicht beeinflussender

[1]) Tugendreich und Russo, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 19, 1913.

Art — festzustellen und sogar quantitativ zu bestimmen erlaubt, wo der Tierversuch mangels eines chemotherapeutischen Effekts überhaupt von vornherein versagen muß.

Damit ist aber die Bedeutung des Reagensglasversuchs für den theoretischen und vor allem für den praktischen Fortschritt der Therapie nicht erschöpft, besonders soweit es sich um die Erforschung der Chinaalkaloide handelt. Wie schon oben erwähnt, ist für die Behandlung des Ulcus serpens als einer spezifischen Pneumokokkeninfektion der Nachweis der ungemein hohen baktericiden Kraft des Optochins im Reagensglasversuch als Grundlage anzusehen[1]); der Tierversuch steht damit insofern in engem Zusammenhang, als er in klarster Weise die Wirkung des Desinfiziens auch bei Anwesenheit von eiweißhaltiger Körperflüssigkeit, somit auch im Blut und Gewebe, erkennen ließ.

Dieser letztere Faktor weist nun den Chinaalkaloiden als Desinfizientien eine ganz besondere Stellung an, da wir feststellen konnten, daß auch für die übrigen Derivate eine Hemmung durch Serumeiweiß nicht stattfindet. Soweit also die Chinaalkaloide für Zwecke der Desinfektion — Wunddesinfektion, Desinfektion in Körperhöhlen, auf und in Schleimhäuten — in Frage kommen, kann der Reagensglasversuch unabhängig vom chemotherapeutischen Tierversuch schon volle Aufklärung über das Verhalten und über die eventuelle Brauchbarkeit der betreffenden Substanzen geben.

Solche Fragen der Desinfektion bei bakteriellen Infektionserregern sind aber in großer Zahl ungelöst vorhanden, und sie sind zum Teil dringlicher Natur, vor allem auch in bezug auf Forderungen der Kriegsmedizin. Wir sind deshalb unseren ursprünglichen chemotherapeutischen Absichten mit Hilfe des Reagensglasversuchs ein Stück vorausgeeilt, in der wohl begründeten Erwartung allerdings, daß er uns wieder zu denselben zurückführen wird. Wir haben das Verhalten einer großen Anzahl von Chinaalkaloiden — entsprechend den Pneumokokken-Reagensglasversuchen — gegenüber einer Anzahl pathogener Bakterien untersucht und sind auch zu Ergebnissen gelangt,

[1]) Siehe außerdem Versuche an der Kaninchencornea von Ginsberg und Kaufmann. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 1913, Juni.

denen eine erhebliche praktische Bedeutung zukommen dürfte. Hier soll jedoch diese Seite der Frage in den Hintergrund treten, und es sollen vor allem jene Resultate hervorgehoben werden, die zu Einblicken in den Zusammenhang zwischen chemischer Konstitution und spezifisch desinfizierender Wirkung geführt haben.

Die relativ geringe Wirkung des Optochin selbst gegenüber einer Anzahl von Mikroorganismen, die in eklatantem Gegensatz zu seiner Pneumokokkenwirkung steht, ist schon mehrfach untersucht und festgestellt worden; sie findet bereits differentialdiagnostisch zur Unterscheidung von Pneumokokken und Streptokokken Verwendung[1]). Über die nicht sehr erhebliche, auch in bezug auf die hemmende Wirkung des Serums eine Ausnahmestellung einnehmende, Wirkung des Optochin auf den Bacillus des Schweinerotlaufs hat Loeser[2]) aus unserem Laboratorium berichtet.

Systematische Versuche über das Verhalten der Meningokokken gegenüber einer Anzahl von Chinaalkaloiden sind neuerdings angestellt und erst kürzlich mitgeteilt worden[3]); sie zeigen die besondere Stellung der höheren Homologen des Äthylhydrocupreins. In neuester Zeit brachten Untersuchungen von Schaeffer[4]) aus dem Frankfurter Hygienischen Institut wichtige Aufschlüsse über die hohe baktericide Wirkung von Chinaalkaloiden auf Diphtheriebacillen; das Äthylhydrocuprein wird hier gleichfalls von einem seiner höheren Homologen, dem Isoamylhydrocuprein (Eucupin) ganz erheblich übertroffen.

Im folgenden soll zunächst über Versuche an Streptokokken[5]) und Staphylokokken berichtet werden[6]).

Die vergleichenden Untersuchungen erstrecken sich im

---

[1]) Siehe Nachmann, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig.-Bd. 77, 1915; Rochs, Virchows Archiv **220**, 1915; Morgenroth, Berl. klin. Wochenschrift **1916**, Nr. 46 (Sitzungsber.).

[2]) Loeser, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **25**, 1916.

[3]) Morgenroth, Berl. med. Gesellsch. 3. Mai 1916; Berl. klin. Wochenschr. **1916**, Nr. 22.

[4]) Schaeffer, ebenda, **1916**, Nr. 38.

[5]) Kurze Mitteilung von Morgenroth und Tugendreich, Berl. klin. Wochenschr. **1916**, Nr. 29.

[6]) Bei den Versuchen wurden wir durch Frln. E. Hartmann, L. Münchhausen und D. Schwalbe auf das beste unterstützt.

wesentlichen auf die homologe Reihe des Hydrocupreins. Es liegen also Verbindungen vor, in welchen im Chinolinkern der Reihe nach die (in untenstehender Formel fettgedruckte) OH-Gruppe des Hydrocupreins, durch die Gruppe —OCH_3 (Hydrochinin), —OC_2H_5 (Äthylhydrocuprein, Optochin) —OC_3H_7 (Isopropylhydrocuprein) usw. ersetzt ist, bis zur Verbindung mit —$OC_{12}H_{25}$ (n-Dodecylhydrocuprein). Außerdem ist noch die Phenacylverbindung (—$O.CH_2.CO.C_6H_5$) mit in die Untersuchung einbezogen.

```
           CH
    H2C  CH2  CH.C2H5
         CH2
    HC        CH2
          N
    |
   HCOH
    |     H
    C     C
  HC    C    COH
  HC    C    CH
      N   CH
```

I. Versuche an Streptokokken.

Die Versuche wurden an acht verschiedenen Streptokokkenstämmen angestellt; sechs waren im Laboratorium frisch gezüchtet, einen Stamm erhielten wir von Frln. Nachmann, einer ist ein alter Laboratoriumsstamm, Streptokokkus Aronson, den wir der Freundlichkeit von Herrn Dr. Marxer verdanken. Alle Stämme gehören dem Typus des Streptococcus longus s. haemolyticus an. Mit Ausnahme des Stammes Aronson bilden sie in Bouillon einen krümligen Bodensatz, alle bilden auf der Blutagarplatte einen hämolytischen Hof. Herkunft der Stämme:

1. Stamm 402 aus der Milz — Puerperalfieber.
2. „ 658 „ Abscess in der Thoraxmuskulatur.
3. „ 534 „ Eiter — Meningitis.
4. „ 927 „ Milz — eitrige Pneumonie.
5. „ 17 „ „ — Scharlach.
6. „ 934 „ Rachen — Diphtherie.

Wir geben nun eine Anzahl Versuche wieder; zahlreiche Wiederholungen, die alle zu einheitlichen Ergebnissen führten, sind weggelassen.

Die Versuche an dem Streptokokkus 402, die in den Tabellen I—IV enthalten sind, sollen vor allem gewisse allgemeine *Prinzipien der Methodik* und der Betrachtungsweise veranschaulichen.

Tabelle I gibt einen vergleichenden Desinfektionsversuch mit Streptokokkus 402 wieder, aus dem der charakteristische Unterschied zwischen der Wirkung des *Chinins* und des *Isoamylhydrocuprein* auf einen Blick zu erkennen und zugleich die angewandte Methode zu ersehen ist.

Tabelle I.

Streptokokkus 402.

24stündige Ascitesbouillonkultur. Je 2 Tropfen in Verdünnungen von Chininum hydrochloricum und Isoamylhydrocuprein hydrochloricum in je 2 ccm Ascitesbouillon. *Sofort* nach Mischung und nach 24 Stunden Brutschrank bei 38° überimpft auf *Blutagarplatten*. Von den 24stündigen Mischungen Mäusen intraperitoneal je 0,5 ccm injiziert.

Chininum hydrochloricum					Isoamylhydrocuprein hydrochloricum					
Verdünnungen	Blutagarplatten		Mäusen nach 24 Std. 0,5 inj. Befund nach Tagen		Verdünnungen	Blutagarplatten		nach 24 Stunden Mäusen 0,5 ccm injiz. Befund nach Tagen		
	sofort	24 Std.	1	4		sofort	24 Std.	1	4	12
1 : 500	++	0	0	†	1 : 10000	++	0	0	0	0
1 : 1000	++	0	0	†	1 : 20000	++	0	0	0	0
1 : 2000	++	0	0	†	1 : 40000	++	0	0	0	0
1 : 4000	++	0	0	†	1 : 80000	++	++	0	0	0
1 : 8000	++	++	0	†	1 : 160000	++	++	0	0	0
Kontrolle	++	++	†		1 : 320000	++	++	†		
					Kontrolle	++	++	†		

++ = starkes Wachstum auf die Platte in dichtem Rasen
0 = kein Wachstum
† = tot, im Herzblut oder Schwanzblut Streptokokken.

Die Streptokokkenaussaat — 2 Tropfen einer üppig bewachsenen Vollkultur in Ascitesbouillon — ist hier eine ungemein starke. Dementsprechend ergibt die Überimpfung auf Blutagarplatten, die sofort nach dem Einbringen der Kultur

in 2 ccm Ascitesbouillon vorgenommen wurde, maximales Wachstum in zahllosen, untrennbar konfluierten Kolonien.

Es zeigt sich nun im Vergleich mit den Kontrollen, daß die stärksten angewandten Konzentrationen von Chinin, nämlich 1 : 500, sowie von Isoamylhydrocuprein, 1 : 10000, keine Hemmung des Wachstums auf der Blutagarplatte ergeben. Die beim Ausstreichen der beimpften Bouillon auf die Blutagarplatte notwendigerweise mitgeschleppten Mengen des relativ hochkonzentrierten Desinfektionsmittels, das in der ursprünglichen Bouillon vollkommene Wachstumshemmung und dann Abtötung der Streptokokken bedingt, erweisen sich also bei dieser Prüfungsmethode als irrelevant, so daß ihr Einfluß ein für alle Mal, besonders da die entscheidenden Werte bei erheblich geringeren Verdünnungen liegen, als extrapoliert angesehen werden darf. Es erfolgt offenbar rasche Diffusion des Alkaloids in die Agarschicht und in diesem Fall auch Bindung durch die Blutkörperchen im Ágar.

Der Effekt, wie er nach 24stündigem Verweilen der Gemische im Brutschrank bei 38° zutage tritt, zeigt also tatsächlich an, durch welche Verdünnungen eine Abtötung der Streptokokken eingetreten ist und durch welche nicht.

Die Regel ist übrigens die, daß nach 24 Stunden zwischen der Konzentration des Desinfektionsmittels, in der völlige Abtötung der Streptokokken stattfindet und derjenigen, in der üppiges Wachstum durch starken Bodensatz der meist konglomerierten Streptokokken oder auch durch starke diffuse Trübung angezeigt wird, eine Zone der Wachstumshemmung, die sich durch Klarbleiben der Bouillon, aber mehr oder weniger verringertes Wachstum auf der Blutagarplatte manifestiert, auftritt, ohne einen breiten Raum einzunehmen.

Das Wachstum auf der Blutagarplatte scheint nun anzuzeigen, daß Chinin in der Konzentration 1:4000 eine vollständige Abtötung der Streptokokken bewirkt, dagegen in der Konzentration 1:8000 eine erkennbare Schädigung nicht mehr herbeigeführt hat. Isoamylhydrocuprein bewirkt dagegen noch in der Konzentration 1:40000 völlige Abtötung, während 1:80000 die Streptokokken anscheinend unbeeinflußt läßt.

Parallel mit der Feststellung des Desinfektionseffekts durch die Überimpfung auf Blutagarplatten nach 24stündiger Ein-

wirkung läuft nun hier eine zweite Versuchsanordnung, die dadadurch gegeben ist, daß gleichzeitig von jedem Gemisch 0,5 ccm einer Maus intraperitoneal injiziert wird.

Es wäre nun zunächst zu erwarten, daß das Ergebnis beider Versuchsreihen — Kultur und Tierimpfung — im wesentlichen einen Parallelismus aufweist mit kleinen Verschiebungen, die dadurch bedingt sein können, daß der Tierversuch ein feineres Reagens auf das Vorhandensein lebender und unter besonders günstigen Verhältnissen noch entwicklungsfähiger Streptokokken darstellt als das Kulturverfahren. Denn die injizierte Menge ist außerordentlich viel größer als die überimpfte, und bei hoher Virulenz der Streptokokken können noch einzelne überlebende Mikroorganismen wohl zur erfolgreichen Infektion genügen.

Dieser letzteren Erwägung entspricht nun in der Tat das Ergebnis des Chininversuchs. Hier korrigiert der Tierversuch das Resultat der Plattenimpfung sehr zuungunsten des Chinins. Er enthüllt, daß die nach dem Ausweis des Plattenversuchs abtötende Chininkonzentration von 1:4000 noch nach 24 Stunden entwicklungsfähige Streptokokken übriggelassen hat, wenn auch in sehr geringer Zahl, und daß selbst das Achtfache dieser Konzentration sich nicht anders verhält. Zu einem Wachstum gelangen die Streptokokken in dem Gemisch nicht mehr. Während die Kontrollmaus nach 24 Stunden der Infektion erliegt, tritt mit allen Mischungen, die Chinin enthalten, mit sehr erheblicher Verzögerung der Tod an Streptokokkeninfektion ein.

Dies trifft auch für die Verdünnung 1:8000 zu und weist auf die wichtige Tatsache hin, daß unabhängig von der vorhandenen oder fehlenden Desinfektionswirkung als solcher durch das Chinaalkaloid ein Sturz der Virulenz eintritt, ein spezieller Faktor, der in Zukunft besonderes Studium erfordern wird.

Auf eine derartige Virulenzverminderung der Pneumokokken unter der Einwirkung des Optochins hat zuerst Goldschmidt[1]) aufmerksam gemacht. Ein genaues Studium der von Tugendreich und Russo[2]) wiedergegebenen Tabellen

---

[1]) Goldschmidt, Münch. med. Wochenschr. **1914**, Nr. 27.

[2]) l. c.

über die Desinfektionswirkung von Chinaalkaloiden, besonders des Optochins, auf Pneumokokken, läßt gleichfalls den schädigenden Einfluß der Chinaalkaloide auf die Virulenz als solche erkennen.

In noch ganz erheblich höherem Maße als bei der Einwirkung des Chinins auf den Streptokokkus kommt dieses Moment in der Versuchsreihe mit Isoamylhydrocuprein zum Ausdruck. Während in der Chininreihe der Tierversuch die Beurteilung völlig zuungunsten der Wirkung verschiebt, findet in der Isoamylreihe gerade in der umgekehrten Richtung eine gewaltige Verschiebung statt.

Hätte man hier ausschließlich den Tierversuch vor sich, so würde man die Grenze der völligen Abtötung der Streptokokken nicht, wie es hier geschehen ist, bei einer Konzentration von 1:40000 festlegen, sondern die Wirkung erschiene als eine vierfach stärkere, indem noch eine Konzentration von 1:160000 vollkommenes Versagen der Infektion, dauerndes Überleben der infizierten Tiere ergibt. Nun zeigt aber der Augenschein durch die Trübung der Bouillon und das ungehemmte Wachstum auf Blutagar bei 1:80000 und 1:160000, daß hier den Mäusen wohl kaum ein geringeres Quantum in voller Entwicklung begriffener Streptokokken injiziert wurde als den Kontrolltieren. Trotzdem bleibt jede Infektion aus.

Dies ist nicht anders zu deuten als durch den vollständigen Verlust der Virulenz. Und zwar zeigt es sich, daß diese tiefgreifende biologische Veränderung der Mikroorganismen unabhängig von irgendeiner nennenswerten Beeinträchtigung des Wachstums sich vollzogen hat, und zwar durch Konzentrationen des Isoamylhydrocupreins, die an und für sich sehr geringe sind, sich bald der Größenordnung der Optochinwirkung auf Pneumokokken nähern, die weit unter der sonst schädlichen Konzentration liegen.

Zwischen Chinin und Isoamylhydrocuprein zeigt sich ein beachtenswerter Unterschied insofern, als die virulenzhemmende Quote bei letzterem in weit stärkerem Maße zum Ausdruck kommt.

Diese Beeinflussung der Virulenz als von der Desinfektionswirkung nicht abhängige Funktion bedarf besonders eingehender weiterer Erforschung; sie kann für Theorie

und Praxis der Chemotherapie von nicht geringerer Bedeutung sein als die Desinfektionswirkung selbst.

Die folgende Tabelle II veranschaulicht an dem gleichen Streptokokkenstamm das Ansteigen der Desinfektionswirkung beim Übergang von Isoamylhydrocuprein zu den höheren Homologen durch einen Vergleich mit der Wirkung des Heptylhydrocupreins, das der optimalen Verbindung, dem Isoctylhydrocuprein, sich schon bedeutend nähert.

Nach 24stündiger Einwirkung ergibt die Isoamylverbindung völlige Abtötung bei 1:20000, partielle Schädigung der Kokken bei 1:40000, keine Wirkung bei 1:60000. Die Heptylverbindung erweist sich als um das Doppelte wirksamer, indem sie noch Abtötung bei 1:40000 ergibt, bis 1:80000 noch eine gewisse Hemmung.

Vor allem soll aber dieser Versuch auf den zeitlichen Verlauf hinweisen; eingehende Versuche über Abhängigkeit der Desinfektionswirkung von Zeit und Temperatur sind noch im Gang. In letzterer Hinsicht ist der vorliegende Versuch nicht exakt, da die Reagenzröhrchen stets in den Brutschrank von 38° eingesetzt wurden und dort nur sehr langsam die Temperatur der umgebenden Luft annahmen. Unter Berücksichtigung dieses Umstandes erscheint die vollständige Abtötung der sehr reichlichen Einsaat durch eine Konzentration 1:5000 bei beiden Präparaten schon nach zweistündiger Einwirkung als der Ausdruck einer sehr starken Desinfektionskraft. Wie ein Vergleich mit Tabelle I zeigt, wird ein ähnlicher Effekt durch Chinin erst nach eintägiger Einwirkung erreicht.

Der Fortschritt in den folgenden ca. 22 Stunden um das Vierfache bei Isoamylhydrocuprein, um das Achtfache bei Heptylhydrocuprein ist gleichfalls aus der Tabelle II ersichtlich. Es kommt dem Grad dieser Steigerung mit der Einwirkungszeit eine nicht geringe theoretische und wohl auch praktische Bedeutung zu.

Tabelle II.

Stamm 402.

Von einer 24stündigen, reichlich bewachsenen Kultur in Ascitesbouillon je 2 ccm in Verdünnungen in Ascitesbouillon von:

a) Isoamylhydrocuprein. hydrochloric.
b) Heptylhydrocuprein. bihydrochloric.

Nach 2 Stunden und 24 Stunden Brutschrank bei 38° auf Agarplatten überimpft.

0 = kein Wachstum auf der Platte.
(+) = einzelne isolierte Kolonien im Impfstrich.
+ = viele " " " "
++ = zahllose " " " "
+++ = völlig konfluierte Kolonien.

Verdünnungen	a) Isoamylhydrocuprein			b) Heptylhydrocuprein		
	Agarplatte		Bouillon nach	Agarplatte		Bouillon nach
	2 Std.	24 Std.	48 Std.	2 Std.	24 Std.	48 Std.
1: 5000	0	0	klar	0	0	klar
1: 10000	(+)	0	"	(+)	0	"
1: 20000	+	0	"	(+)	0	"
1: 40000	++	(+)	schwach trübe	++	0	"
1: 60000	++	+++		++	++	schwach trübe
1: 80000	++	+++		+++	++	
1:120000	+++	+++		+++	+++	
1:160000	+++	+++		+++	+++	
Kontrolle	+++	+++		+++	+++	

Tabelle III.

Streptokokkus 402.

Versuchsanordnung wie Tabelle I.

Verdünnung	Isoamylhydrocuprein		Phenacylhydrocuprein	
	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.
1: 1500	0	0	0	0
1: 3000	0	0	0	0
1: 6000	0	0	0	0
1: 9000	0	0	0	0
1:12000	(+)	0	(+)	+
1:15000	+	0	(+)	++
1:18000	+	0	+	++
1:24000	++	0	++	++
1:30000	+++	0	+++	+++
Kontrolle	+++	+++	+++	+++

Tabelle IV.

Streptokokkus 402.

Versuchsanordnung wie Tabelle I.

Phenacylhydrocuprein. hydrochloric.

Verdünnungen	Blutagar	
	2 Std.	24 Std.
1: 1500	0	0
1: 3000	0	0
1: 6000	0	0
1:12000	0	0
1:24000	0	+++
Kontrolle	++	+++

Betrachtet man in Tabelle III das Verhalten des Isoamylhydrocupreins, so beobachtet man wie in Tabelle II (ebenso wie in den folgenden Versuchen an Streptokokken) ein Fortschreiten der desinfizierenden Wirkung mit der Zeit. Während hier nach 2stündiger Einwirkung bei einer Verdünnung 1:9000 eine Abtötung der Streptokokken und bei 1:30000 keine erkennbare Beeinträchtigung stattfindet, ist nach 24stündiger Einwirkung eine Grenze — die etwa bei 1 : 40000 liegen dürfte — nicht erreicht; die geringste angewandte Konzentration von 1:30000 ergibt noch Abtötung der Streptokokken.

Bemerkt sei hierzu ausdrücklich, daß wir auch nach der sehr häufig geübten längeren Beobachtung, die sich über 48 Stunden bei 38° und weiter erstreckte, bei Streptokokken unter der Einwirkung der Verbindungen der homologen Reihe nie einen Rückschlag beobachteten. Wo die Aussaat auf die Platte nach 24 Stunden das Fehlen lebender und entwicklungsfähiger Streptokokken ergab, da trat auch in den Ascites-Bouillonröhrchen späterhin kein Wachstum mehr ein. Die Zone der Wachstumshemmung kann, wie schon oben erwähnt, die Abtötungszone etwas überragen; ob dies zum Ausdruck kommt, hängt natürlich im Einzelfall in hohem Maße von der Feinheit der Konzentrationsabstufungen ab. Dagegen tritt in den sehr zahlreichen Versuchen niemals das Umgekehrte ein, daß nämlich in einem Röhrchen, in dem die Aussaat Abtötung der Streptokokken hatte erkennen lassen, noch nachträglich Wachstum einsetzte. Eine Erscheinung, die so zu erklären wäre, daß zunächst ganz vereinzelte Streptokokken als besonders resistent der Abtötung entgehen, aber gehemmt werden, dann aber auch den hemmenden Einfluß überwinden und sich weiter entwickeln.

Verhältnisse dieser Art liegen aber, wie Tabelle III und IV erkennen lassen — im Gegensatz zu den Verhältnissen bei der Einwirkung des Isoamylhydrocupreins auf Streptokokken, jedoch im Einklang mit dem Verhalten eines von uns untersuchten Vibrio gegen diese Verbindung —, in dem Verhalten der Streptokokken gegenüber dem Phenacylhydrocuprein vor.

Hier findet in keinem Fall ein Fortschreiten der Desinfektionswirkung innerhalb 22 Stunden statt, vielmehr ein deutlicher Rückschritt, wie er besonders in Tabelle III zu-

tage tritt. Die Wirkung des Phenacylhydrocupreins, wie sie nach 2stündiger Einwirkung beobachtet wird, ist eine recht bedeutende (kein Wachstum bei 1 : 9000 bzw. 1 : 24000); dann tritt aber kein Fortschritt mehr ein, und sie stellt sich nach 24 Stunden auf 1 : 9000 bis 12000 ein. Hier findet also die eben erwähnte nachträgliche Entwicklung statt.

Die folgenden Tabellen zeigen nun das absolute und relative Verhalten verschiedener Glieder der untersuchten homologen Reihe gegenüber einer Anzahl von Streptokokkenstämmen.

Tabelle V gibt in einem vergleichenden Versuch das Verhalten des Streptokokkus 658 gegen Optochin und Isoamylhydrocuprein wieder.

Das Optochin bewirkt nach 2 Stunden in der Verdünnung 1 : 2500 noch keine vollständige Abtötung, wohl aber nach 24 Stunden; 1 : 5000 ist wirkungslos. Bei Isoamylhydrocuprein ist durch 1 : 10000 schon nach 2 Stunden Abtötung erreicht, im weiteren Verlauf schreitet diese Wirkung um das Vierfache, bis 1 : 40000, fort. Diese letztere Wirkung entspricht dem Verhalten des Streptokokkus in Tabelle I, der nach 2 Stunden weniger beeinflußt ist; zwischen dem Verhalten des Chinins in Tabelle I und dem des Optochins in Tabelle V besteht offenbar ein erheblicher Unterschied nicht.

Tabelle V.

Streptokokkus 658.

24stündige Bouillonkultur.

Verdünnungen in Ascitesbouillon von

a) Optochin. hydrochloricum,

b) Isoamylhydrocuprein. bihydrochloricum.

Überimpft auf Ascitesagarplatten.

Verdünnungen in Ascitesbouillon	a) Optochin Ascitesagarplatten		b) Isoamyl Ascitesagarplatten	
	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.
1 : 2500	(+)	0	0	0
1 : 5000	++(+)	+++	0	0
1 : 10000	++(+)	+++	0	0
1 : 20000	+++	+++	(+)	0
1 : 40000	+++	+++	+++	0
1 : 80000	+++	+++	+++	+++
1 : 160000	+++	+++	+++	+++
1 : 320000	+++	+++	+++	+++
Kontrolle	+++	+++	+++	+++

Tabelle VI.

Streptokokkus 658.

24stündige Bouillonkultur, je 2 Tropfen in 2 ccm Flüssigkeit.
Verdünnungen: 1. in Bouillon,
2. in Ascitesbouillon.
a) Isoamylhydrocuprein. bihydrochloricum,
b) Isoctylhydrocuprein. bihydrochloricum.
Überimpft auf Ascitesagarplatten.

Verdünnungen	a) Isoamylhydrocuprein				b) Isoctylhydrocuprein			
	1. in Bouillon nach		2. in Ascitesbouillon nach		1. in Bouillon nach		2. in Ascitesbouillon nach	
	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.
1 : 2500	0	0	0	0	0	0	0	0
1 : 5000	0	0	0	0	0	0	0	0
1 : 10000	0	0	0	0	0	0	0	0
1 : 20000	(+)	0	+	0	0	0	0	0
1 : 40000	++(+)	++	++(+)	0	((+))	0	0	0
1 : 80000	++(+)	++(+)	+++	++(+)	++	0	++	0
1 : 160000	++(+)		+++			+++	+++	+++
Kontrolle	+++		+++			+++	+++	+++

In Tabelle VI wird an demselben Streptokokkus 658 unter Wiederholung eines Versuches mit Isoamylhydrocuprein die Beobachtung zum Isoctylhydrocuprein fortgeführt, das nach allen unseren Versuchen die optimal auf Streptokokken wirkende Verbindung darstellt.

Bei beiden Verbindungen tritt auch hier ganz deutlich das Fortschreiten der Desinfektionswirkung mit der Zeit hervor. Nach 24 Stunden ist die Abtötung durch 1 : 20000 bzw. 1 : 40000 bei Isoamylhydrocuprein, durch 1 : 80000 beim Isoctylhydrocuprein erreicht.

Dies ist ein ungemein hoher Desinfektionswert, wenn er auch demjenigen des Optochins gegenüber Pneumokokken bei weitem nicht gleichkommt. Als charakteristisch sei auch für unsere Versuche auf die geringe Wirkung des Optochins gegenüber den Streptokokken aufmerksam gemacht, die hier um ein Vielhundertfaches gegen die Pneumokokkenwirkung zurücktritt.

Ganz entsprechend ist das Verhalten zweier weiterer Streptokokkenstämme (402 und 534) dem Isoamylhydrocuprein gegenüber. Deutliche Steigerung nach 22 Stunden und in beiden Fällen schließlich Abtötung durch die Verdünnung 1 : 40000. (Tab. VII.)

Tabelle VII.

Streptokokkus 402 und 534.

24 stündige Bouillonkulturen.

Isoamylhydrocuprein. hydrochloricum
in Bouillon

Verimpft nach 2 Stunden und 24 Stunden auf Blutagarplatten.

Verdünnungen in Bouillon	402		534	
	2 Std.	24 Std.	2 St.	24 Std.
1: 5000	0	0	0	0
1:10000	0	0	0	0
1:20000	0	0	+	0
1: 40000	+	0	++	0
1:50000	++	+	++	++
1:80000	++	++	++	++
Kontrolle	++	++	++	++

Tabelle VIII.

Streptokokkus 927

24 stündige Bouillonkultur. 2 Tropfen Vollkultur in 2 ccm Verdünnungen in Bouillon von

a) Optochin. hydrochloricum,
b) Isoamylhydrocuprein. bihydrochloricum,
c) Isoctylhydrocuprein. bihydrochloricum

auf Blutagarplatten.

Verdünnungen in Bouillon	a) Optochin		b) Amyl		c) Octyl	
	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.
1: 2500	0	0	0	0	0	0
1: 5000	0	0	0	0	0	0
1: 10000	+	++	0	0	0	0
1: 20000	+	++	0	0	0	0
1: 40000	++	++	++	0	0	0
1: 80000	++	++	++	++	(+)	0
1:160000	++	++	++	++	++	++
Kontrolle	++	++	++	++	++	++

Bei dem folgenden Versuch (Tabelle VIII) prüften wir einen weiteren Stamm, den Streptokokkus 927, unter Beibehaltung der gleichen Versuchsanordnung mit Optochin, Isoamylhydrocuprein und Isoctylhydrocuprein. Die wirksamen Konzentrationen sind ungefähr die gleichen. Das Ver-

hältnis der Wirkung dieser drei Substanzen ist wie 1 : 8 : 16.

Ebenso verhält sich der Streptokokkenstamm Nr. 17 (Tab. IX). In dieser Versuchstabelle IX haben wir anstatt Vollkultur $^1/_{100}$ Kultur genommen und die Substanzen in Ascitesbouillon verdünnt. Die wirksame Konzentration der drei Substanzen ist die gleiche wie in dem vorherigen Versuch.

Es folgt nun eine Reihe von Versuchen, in denen wir die weiteren, niedrigeren und höheren Homologen des Isoamylhydrocupreins und Isoctylhydrocupreins prüften.

Tabelle X veranschaulicht vor allem die Stellung der Heptylverbindung zwischen dem Isoamylhydrocuprein und den beiden hier untersuchten Octylverbindungen. Das Heptylhydrocuprein weist bereits gegenüber dem Isoamylhydrocuprein eine gewisse (bei 40000 (+) gegen +++) Steigerung der Wirkung auf, erheblicher ist aber die Differenz zugunsten des Isoctylhydrocupreins. Von Interesse ist es, daß die Isoctylverbindung hier, wie auch in anderen, nicht wiedergegebenen Versuchen der Normal-Octylverbindung gegenüber ganz entschieden überlegen ist.

Tabelle IX.

Streptokokken 17.

24 stündige $^1/_{100}$-Ascitesbouillonkultur, je 2 Tropfen in 2 ccm Verdünnungen in Ascitesbouillon von

a) Optochin hydrochloricum,
b) Isoamylhydrocuprein. bihydrochloricum,
c) Isoctylhydrocuprein. bihydrochloricum.

Nach 24 Stunden Brutschrank bei 38° überimpft auf Blutagarplatten.

++ = Volles Wachstum mit stark hämolytischem Hof.

Verdünnung	a) Optochin	b) Isoamyl	c) Isoctyl
1 : 10000	++	0	0
1 : 20000	++	0	0
1 : 40000	++	++	0
1 : 80000	++	++	0
1 : 160000	++	++	++
Kontrolle	++	++	++

Tabelle X.

Streptokokkus Aronson.

24stündige Ascitesbouillonkultur, 2 Tropfen in 2 ccm Verdünnungen in Ascitesbouillon von

a) Isoamylhydrocuprein. bihydrochloricum,
b) Heptylhydrocuprein. bihydrochloricum,
c) Normal-Octylhydrocuprein. bihydrochloricum,
d) Isoctylhydrocuprein. bihydrochloricum.

Überimpft auf Ascitesagarplatten.

Verdünnung in Ascites-bouillon	a) Isoamyl. Ascites-agarplatte		b) Heptyl. Ascites-agarplatte		c) N.-Octyl. Ascites-agarplatte		d) Isoctyl. Ascites-agarplatte	
	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.
1 : 2500	0	0	0	0	0	0	0	0
1 : 5000	0	0	0	0	0	0	0	0
1 : 10000	(+)	0	0	0	0	0	0	0
1 : 20000	+	0	(+)	0	0	0	(+)	0
1 : 40000	+++	+++	++(+)	(+)	+	0	+	0
1 : 80000	+++	+++	+++	++(+)	++	+++	+++	0
1 : 160000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++(+)
Kontrolle	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Endlich geben die Tabellen XI und XII, die Versuche mit dem Streptokokkus 17 enthalten, einen Überblick über das Verhalten der spezifisch baktericiden Wirkung innerhalb der homologen Reihe.

Chinin und Hydrochinin, die sich nur sehr wenig zugunsten des letzteren unterscheiden, zeigen eine geringe Wirkung, die hinter derjenigen des Chinins bei Stamm 402 (Tab. I) erheblich zurücksteht. Die Isopropylverbindung zeigt einen sehr bedeutenden Anstieg; sie ist etwa 8 mal wirksamer als Hydrochinin. Die Isobutylverbindung zeigt eine weitere Steigerung um das Doppelte, die sich bei der Isoamylverbindung fortsetzt und endlich ihren Höhepunkt bei der Isoctylverbindung erreicht, deren absoluter Wert in Einklang mit den früheren Tabellen steht. Sie erscheint hier etwa 64mal wirksamer als Chinin resp. Hydrochinin.

In Tabelle XII schafft die Wiederholung des Versuchs mit Isoamylhydrocuprein und Isoctylhydrocuprein die stets notwendige Verbindung, die zur Erlangung einwandfreier relativer Werte hergestellt werden muß.

Tabelle XI.

Streptokokkus 17.

24stündige Ascitesbouillonkultur. Verdünnungen in Ascitesbouillon.

a) Chinin,
b) Hydrochinin,
c) Isopropylhydrocuprein. bihydrochloricum,
d) Isobutylhydrocuprein. bihydrochloricum,
e) Isoamylhydrocuprein. bihydrochloricum,
f) Isoctylhydrocuprein. bihydrochloricum.

Verimpft nach 24 Stunden auf Blutagarplatten.

Verdünnungen	Chinin	Hydroch.	Isopropyl.	Isobutyl	Isoamyl	Isoctyl
1 : 1000	0	0	0	0		
1 : 2000	+++	+	0	0		
1 : 4000	+++	+++	0	0	0	0
1 : 8000	+++	+++	0	0	0	0
1 ; 16000	+++	+++	+++	0	0	0
1 : 32000	+++	+++	+++	+++	+	0
1 : 64000	+++	+++	+++	+++	+++	0
1 : 128000	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Kontrolle	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Tabelle XII

Streptokokkus 17.

24stündige $^1/_{100}$-Ascitesbouillon.

Verdünnungen in Ascitesbouillon.

a) Isoamylhydrocuprein bihydrochloricum,
b) Isooctylhydrocuprein bihydrochloricum,
c) Decylhydrocuprein bihydrochloricum,
d) Dodecylhydrocuprein bihydrochloricum.

Verimpft nach 24 Stunden auf Blutagarplatte.

Verdünnungen	a) Isoamyl	b) Isoctyl	c) Decyl	d) Dodecyl
1 : 10 000	0	0	0	0
1 : 20 000	0	0	0	+++
1 : 40 000	0	0	+++	+++
1 : 80 000	+++	0	+++	+++
1 : 160 000	+++	+++	+++	+++
Kontrolle	+++	+++	+++	+++

Hier tritt auf das augenfälligste zutage, daß mit der Octylverbindung das Optimum erreicht wird. Bei der Decylverbindung sinkt die Wirkung auf $^1/_4$, bei der Dodecylverbindung auf $^1/_8$.

In bemerkenswerter Weise zeigt sich übrigens in Tabelle XI und XII ein Umstand, der uns bei allen Versuchen mit Strepto-

kokken aufgefallen ist, nämlich die Unabhängigkeit der Desinfektionswirkung von der Höhe der Einsaat. Die Wirkung ist die gleiche, ob Vollkultur (Tab. XI) oder die hundertfache Verdünnung einer solchen (Tab. XII) zur Einsaat benutzt wurde.

Die Empfindlichkeit der verschiedenen Streptokokkenstämme zeigt eine auffallende Übereinstimmung in bezug auf das Verhalten der optimalen Verbindungen. Bei Stamm 402 beobachteten wir, daß nach monatelanger Fortzüchtung in Kulturen im Laboratorium ein bedeutendes Sinken der Empfindlichkeit eintrat; Isoctylhydrocuprein wirkte schließlich nicht mehr in der Verdünnung 1:80000, sondern erst in der Verdünnung 1:20000. Dieses Moment ist besonders bei Festigungsversuchen zu beachten.

Nur der Streptokokkus 934 erwies sich auch in frischem Zustand als abnorm unempfindlich, wenn auch noch ansehnliche Wirkungen erzielt wurden. Isoctylhydrocuprein tötete in 24 Stunden bei schwacher Einsaat ($^1/_{100}$ Kultur) erst in der Konzentration 1:20000 ab, die Relation gegen Isoamylhydrocuprein war die normale, indem hier 1:10000 wirksam war, 1:20000 jedoch nicht mehr. Auch der Abfall beim Übergang zu den höheren Homologen trat ganz klar hervor; Decylhydrocuprein entsprach in seiner Wirkung dem Isoamylhydrocuprein, von der Dodecylverbindung war auch die Verdünnung 1:10000 unwirksam (s. Tab. XIII).

Tabelle XIII.

Streptokokkus 934.

24stündige Ascitesbouillonkultur, $^1/_{100}$ Kultur.
Verdünnungen in Ascitesbouillon.
a) Isoamylhydrocuprein bihydrochloricum,
b) Isoctylhydrocuprein bihydrochloricum,
c) Decylhydrocuprein bihydrochloricum,
d) Dodecylhydrocuprein bihydrochloricum.
Nach 24 Stunden auf Blutagarplatten.

Verdünnungen	a) Isoamyl	Isoctyl	c) Decyl	d) Dodecyl
1:10000	0	0	0	++
1:20000	++	0	++	++
1:40000	++	++	++	++
1:80000	++	++	++	++
Kontrolle	++	++	++	++

Das Verhalten des Streptococcus viridans unterscheidet sich nicht unwesentlich von dem hier für den Streptococcus longus als typisch erkannten, wie aus Versuchen, die Rochs (l. c.) in unserem Laboratorium angestellt hat, und aus späteren eigenen Versuchen hervorgeht. Auch dieser Streptokokkus ist in hohem Maße resistent gegenüber Äthylhydrocuprein, dagegen unterscheidet er sich von dem Streptococcus longus dadurch, daß er erheblich unempfindlicher gegenüber dem Isoctylhydrocuprein erscheint. Es sind Konzentrationen von 1:10000 bis 1:20000 zu seiner Abtötung nötig.

II. Versuche an Staphylokokken.

Die Versuchsanordnung war im wesentlichen die gleiche, wie bei den Streptokokken; die günstigeren Kulturverhältnisse der Staphylokokken erlaubten die Benutzung von gewöhnlichem Agar zur Abimpfung und machten die Ascitesbouillon entbehrlich, statt welcher Bouillon und Traubenzuckerbouillon (2%ig) diente. Die hohe Resistenz der Staphylokokken erlaubte es auch, Versuche in Wasser anzustellen, die deshalb von Vorteil waren, weil die höheren Homologen in salzhaltigen Medien nur sehr wenig löslich sind und so die Verwendung höherer Konzentrationen in Bouillon erschwert ist. Es wurden fünf Staphylokokken-Stämme (4 St. aureus und 1 St. albus) benutzt.

Die Tabelle XIV zeigt die Wirkung des Optochin hydrochloricum, Isoamylhydrocuprein bihydrochloricum und des Isoctylhydrocuprein bihydrochloricum auf einen Staphylococcus aureus, Stamm 42. Die Substanzen wurden in Ascitesbouillon verdünnt, und zu je 2 ccm dieser Verdünnungen wurden 2 Tropfen einer $^1/_{100}$-Bouillonkultur zugesetzt. Die Mischungen wurden nach 2 Stunden bei 38° auf Agarplatten überimpft und nach 24 Stunden bei 38° untersucht. Eine Überimpfung ist hier — Reinkultur vorausgesetzt — nicht unter allen Umständen notwendig, da ja zum mindesten das volle Wachstum den Grenzwert anzeigt, bei welchem keine Hemmung mehr eintritt. Unentschieden bleibt allerdings bei dieser Anordnung, ob der Nullwert einer vollständigen Abtötung oder einer Wachstumshemmung entspricht.

Es zeigt sich nun, daß das Optochin nach 2 Stunden in einer Verdünnung von 1:2000 die Staphylokokken an-

scheinend abtötet. Die Agarplatte zeigt kein Wachstum. Eine Hemmung des Wachstums ist noch bei der Verdünnung von 1:10000 sichtbar. Dagegen tötet das Isoamylhydrocuprein in einer Verdünnung von 1:20000 und das Isoctylhydrocuprein in einer Verdünnung von 1:40000 den größten Teil der Staphylokokken ab. Betrachtet man die Mischungen, nachdem sie 24 Stunden (bei 38°) gestanden haben, so ergibt sich, daß die abtötende Wirkung des Isoctylhydrocuprein auch in der Konzentration von 1:40000 erfolgt, dagegen wachsen die Staphylokokken bei dem Isoamylhydrocuprein in der Verdünnung von 1:20000 und werden erst vollkommen gehemmt resp. abgetötet von einer Konzentration von 1:10000. Ähnlich verhält sich das Optochin. Nach 24 Stunden tötet 1:1000 ab; in der Verdünnung 1:2000 wachsen die Staphylokokken ebenso wie im Kontrollröhrchen. Das Verhältnis der endgültigen Wirkung von Optochin, Isoamylhydrocuprein und Isoctylhydrocuprein entspricht also hier 1:10:40.

Tabelle XIV.

Staphylococcus aureus 42.

24stündige $^1/_{100}$-Bouillonkultur, davon 2 Tropfen in 2 ccm Verdünnungen in Ascitesbouillon von
a) Optochin hydrochloricum,
b) Isoamylhydrocuprein bihydrochloricum,
c) Isoctylhydrocuprein bihydrochloricum.

Nach 2 Stunden bei 38° überimpft auf Agarplatten.
Wachstum in der Ascitesbouillon nach 24 Stunden bei 38°.

Verdünnungen	a) Optochin		b) Isoamyl		c) Isoctyl	
	2 Std. Agarplatten	24 Std. Ascitesbouillon	2 Std. Agarplatten	24 Std. Ascitesbouillon	2 Std. Agarplatten	24 Std. Ascitesbouillon
1: 1000	0	unbewachsen	0	unbewachsen	0	unbewachsen
1: 2000	0	bewachsen	0	"	0	"
1: 5000	(+)	"	0	"	0	"
1: 10000	+	"	0	"	0	"
1: 20000	++	"	0	bewachsen	0	"
1: 40000	++	"	(+)	"	0	"
1: 80000			+	"	++	bewachsen
1:160000					++	"
1:320000					++	"
Kontrollen	++	"				

Eine Wiederholung des Versuchs mit demselben Stamm und mit Isoctylhydrocuprein mit dem wesentlich gleichen Ergebnis stellt die Tabelle XV dar. Hier sind nach 24 Stunden Agarplatten beimpft und zeigen die vollständige Abtötung durch eine Verdünnung 1:40000. Dieser Grenzwert ist der gleiche, ob es sich um Ascitesbouillon mit einem Gehalt von 20 % Ascitesflüssigkeit oder um einfache Bouillon handelt. In letzterer erstreckt sich die Hemmungszone noch auf die Verdünnung 1:80000, entsprechend den schlechten Wachstumsbedingungen. Der Versuch zeigt aber, daß der Eiweißgehalt der Ascitesbouillon keinerlei hemmende Wirkung auf die Desinfektionskraft des Isoctylhydrocuprein ausübt.

Tabelle XV.

Staphylococcus aureus 42.

24 stündige $^1/_{100}$-Bouillonkultur. 2 Tropfen in 2 ccm Verdünnungen von Isoctylhydrocuprein bihydrochloricum in
a) Ascitesbouillon,
b) Bouillon.
Nach 2 und 24 Stunden bei 38° überimpft auf Agarplatten.

Verdünnungen	a) Ascitesbouillon			b) Bouillon		
	2 Std.	24 Std.		2 Std.	24 Std.	
	Agarpl.	Agarpl.	Ascites-Bouillon	Agarpl.	Agarpl.	Bouillon
1: 2000	0	0	ausgefall.	0	0	ausgefall.
1: 5000	0	0	„	0	0	„
1: 10000	0	0	„	0	0	„
1: 20000	0	0	„	0	0	klar
1: 40000	(+)	0	klar	0	0	„
1: 80000	(+)	+++	trübe (bewachs.)	++	+++	„
1:160000	(+)		„	++		trübe (bewachs.)
1:320000	+		„	++		„
Kontrolle	+		„	++		„

Die Wirkung unserer üblichen Desinfizientien, wie Sublimat, Phenol, Lysol, auf den häufig als Testobjekt verwendeten Staphylokokkus im Vergleich zur Wirkung des Isoctylhydrocuprein zeigen die Tabellen XVIa und XVIb. Die Substanzen wurden in Versuch XVIa in 2 %iger Traubenzuckerbouillon, in XVIb in Wasser verdünnt. Die übrige Technik ist die gleiche wie beim vorhergehenden Versuch. Man sieht, daß das Phenol

Tabelle XVIa.

Staphylococcus albus von normaler Haut.

24stündige $^1/_{100}$-Bouillonkultur, 2 Tropfen in 2 ccm Verdünnungen in $2^0/_0$iger Traubenzuckerbouillon von

a) Isoctylhydrocuprein bihydrochl.,
b) Sublimat,
c) Phenol.

Nach 2 Stunden bei 38° überimpft auf Agarplatten.

Wachstum in der Traubenzuckerbouillon nach 24 Stunden bei 38°.

Verdünnungen	a) Isoctyl		b) Sublimat		c) Phenol	
	2 Std. Agarpl.	24 Std. Traubenz.-Bouillon	2 Std. Agarpl.	24 Std. Traubenz.-Bouillon	2 Std. Agarpl.	24 Std. Traubenz.-Bouillon
1: 2500	0	unbewachsen	0	unbewachsen	++	bewachsen
1: 5000	0	"	0	bewachsen	++	"
1: 10000	0	"	(+)	"	++	"
1: 20000	0	"	(+)	"	++	"
1: 40000	0	"	++	"	++	"
1: 80000	+	"	+	"	++	"
1: 160000	+	bewachsen	+	"	++	"
Kontrolle	++	"			++	"

Tabelle XVIb.

Staphylococcus aureus 669.

2 Tropfen Vollkultur in 2 ccm Verdünnungen in Aqua dest. von

a) Phenol,
b) Lysol.

Nach 2 und 24 Stunden bei 38° überimpft auf Agarplatten.

Verdünnungen	a) Phenol		b) Lysol	
	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.
1: 100	0	0	0	0
1: 200	0	0	0	0
1: 400	0	0	0	0
1: 800	++(+)	0	0	0
1: 1600	++(+)	6 Kol.	++	5 Kol.
1: 3200	+++	+++	++(+)	++
Kontrolle	+++	+++	+++	+++

und Lysol in den hier angewandten Verdünnungen von 1: 2500 resp. 1: 3200 an gar keine Wirkung auf die Staphylokokken ausübt. Sowohl die Agarplatten wie die Traubenzuckerbouillon zeigen ein ebensolches Wachstum wie die Kontrolle.

Aber auch das Sublimat steht in seiner Wirkung hinter derjenigen des Isoctylhydrocuprein weit zurück. Letzteres tötet

die Staphylokokken bei einer Konzentration von 1:40000 vollkommen ab und erweist sich noch bei 1:80000 als wachstumshemmend, dagegen beträgt die noch wirksame Konzentration des Sublimats 1:2500 bis 5000. Die Wirkung des Isoctylhydrocuprein ist also 8 bis 16 mal stärker als die des Sublimats.

Wir haben in diesem Versuch absichtlich an Stelle der sonst vielfach benutzten Ascitesbouillon Traubenzuckerbouillon gewählt, da sonst der Eiweißgehalt des Nährmediums die Sublimatwirkung vollständig gehemmt hätte. Den Bedingungen einer optimalen Nährlösung für die Staphylokokken genügt gerade die Traubenzuckerbouillon.

Ganz ähnliche Verhältnisse bezüglich der Wirkung des Isoctylhydrocupreins und des Isoamylhydrocupreins bieten die beiden Stämme von Staphylococcus aureus Nr. 669 und Nr. 413.

Tabelle XVII.

Staphylococcus aureus 669 und 413.

2 Tropfen 24 stündige $^{1}/_{100}$-Bouillonkultur in 2 ccm Verdünnungen in 2%iger Traubenzuckerbouillon von

a) Isoamylhydrocuprein bihydrochl.,
b) Isoctylhydrocuprein bihydrochl.

Nach 24 Stunden bei 38° überimpft auf Agarplatten.

Verdünnungen	669				413			
	Isoamyl		Isoctyl		Isoamyl		Isoctyl	
	24 Std.		24 Std.		24 Std.		24 Std.	
	Bouillon	Platten	Bouillon	Platten	Bouillon	Platten	Bouillon	Platten
1:10000	klar	0	klar	0	klar	0	klar	0
1:20000	„	60 Kol.	„	0	„	48 Kol.	„	0
1:40000	trübe	+++	„	++	trübe	+++	„	0
1:80000	„	+++	„	+++	„	+++	„	++
Kontrolle	„	+++	trübe	+++	„	+++	trübe	+++

Wie aus der Tabelle XVII ersichtlich ist, wurde hier nur das Verhalten nach 24stündiger Einwirkung von Isoamylhydrocuprein und Isoctylhydrocuprein bei 38° festgestellt. Stamm 413 zeigt dasselbe Verhalten wie der in Tabelle XV behandelte Stamm 42. Isoamylhydrocuprein ergibt völlige Abtötung in der Verdünnung 1:10000, Wachstumshemmung in der Verdünnung 1:20000. Isoctylhydrocuprein tötet in der Verdünnung 1:40000 ab und hemmt noch in der Verdünnung 1:80000.

Also auch hier ist das Verhältnis zwischen den beiden Verbindungen wie 1:4.

Stamm 669 zeigt dieselbe Empfindlichkeit gegenüber dem Isoamylhydrocuprein, dagegen eine geringere Empfindlichkeit gegenüber der Isoctylverbindung. Die Hemmungszone reicht zwar noch bis 1:40000, aber eine Abtötung findet nur bei der Verdünnung 1:20000 statt.

Nimmt man die Hemmung als Maßstab, so bleibt das Verhältnis 1:4 bestehen, dagegen wird es bei Anrechnung der Abtötung auf 1:2 reduziert.

Ein weiterer Staphylokokkenstamm, der von der normalen Haut gezüchtet wurde, zeigt gleichfalls eine entsprechende Empfindlichkeit gegenüber dem Isoctylhydrocuprein.

Tabelle XVIII.

Staphylococcus aureus von normaler Haut.

2 Tropfen einer 24stündigen Bouillon-Vollkultur in 2ccm Verdünnungen von Isoctylhydrocuprein bihydrochl. in 2%iger Traubenzuckerbouillon nach 2 Stunden und 24 Stunden bei

a) 38° (Brutschrank),

b) 8° (Eisschrank),

c) Röhrchen vom Versuch b auf 24 Stunden in Brutschrank bei 38°, überimpft auf Agarplatten.

Verdünnungen	a) 38°		b) 8°		c) 24 Std. bei 8°, darauf 24 Std. bei 38°
	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	
1: 2500	0	0	++	0	0
1: 5000	0	0	++	1 Kol.	0
1: 10000	++	0	++	++	0
1: 20000	++	0	++	++	2 Kol.
1: 40000	++	+++	++	++	+++
1: 80000	++	+++	++		
1:160000	++	+++	++		
Kontrolle	++	+++	++	++	+++

Die Trübung der Röhrchen ist in der Tabelle XVIII nicht vermerkt, weil eine besondere Hemmungszone nicht auftritt; da, wo die Überimpfung auf Agarplatte kein Wachstum ergibt, bleiben auch die beimpften Röhrchen mit Traubenzuckerbouillon vollständig klar. Eine völlige Abtötung findet bei 1:20000 statt, während in den vorausgegangenen Versuchen noch 1:40000 wirksam war. Diese Differenz darf aber nicht ohne weiteres auf eine geringere Empfindlichkeit des Stammes

zurückgeführt werden, da hier die Aussaat 2 Tropfen Vollkultur, also eine 100mal größere war als in den vorausgehenden Versuchen. Die Größe der Aussaat mag hier eine gewisse Rolle spielen, die wir bei den Streptokokkenversuchen, wie erwähnt, vermissen. Bemerkenswert ist, daß auch hier schon nach 2stündiger Einwirkung bei Brutschranktemperatur durch die Verdünnung 1:5000 eine Abtötung erzielt wird.

Die Tabelle enthält einen vergleichenden Versuch, der parallel mit dem Brutschrankversuch bei Eisschranktemperatur von 8° ausgeführt wurde. Es ist hier deutlich der Einfluß der Temperatur zu erkennen, indem die Wirkung bei niedriger Temperatur um etwa das Vierfache geringer ist als bei Brutschranktemperatur.

Erheblich unempfindlicher erweist sich ein weiterer Stamm von Staphylococcus aureus Nr. 279. Hier tötet das Isoamylhydrocuprein erst bei einer Verdünnung von 1:5000 nach 24 Stunden, das Isoctylhydrocuprein erst bei einer Verdünnung von 1:10000 ab, während 1:20000 noch Hemmung ergibt. Dieser Versuch läßt erkennen — was ja auch zu erwarten war — daß unter den verschiedenen Staphylokokkenstämmen nicht unerhebliche Schwankungen in der Empfindlichkeit vorkommen (Tabelle XIX).

Tabelle XIX.

Staphylococcus aureus 279.

2 Tropfen 24stündige $^{1}/_{100}$-Bouillonkultur in 2 ccm Verdünnungen in 2%iger Traubenzuckerbouillon von

a) Isoamylhydrocuprein bihydrochl.,
b) Isoctylhydrocuprein bihydrochl.

Nach 24 Stunden bei 38° überimpft auf Agarplatten.

Verdünnungen	a) Isoamyl nach 24 Std.		b) Isoctyl bihydrochl. nach 24 Std.	
	Bouillon	Platten	Bouillon	Platten
1: 2500	ausgef.	0	ausgef.	0
1: 5000	klar	0	"	0
1: 10000	"	++	klar	0
1: 20000	trübe	+++	"	++
1: 40000	"	+++	trübe	+++
1: 80000	"	+++	"	+++
1:160000	"	+++	"	+++
Kontrolle	"	+++	"	+++

Einem besonders empfindlichen Stamm dagegen begegnen wir in einem Staphylococcus albus von normaler Haut, dessen Verhalten in Tabelle XX wiedergegeben ist. Hier wirkt das Isoctylhydrocuprein schon nach 2 Stunden abtötend in einer Verdünnung von 1:80000. Es findet dann im Laufe der nächsten 22 Stunden weder eine Verschiebung dieser Abtötungsgrenze nach unten, noch irgendwelches Wachstum in den entsprechenden Reagensröhrchen statt. Isoamylhydrocuprein wirkt nach 24 Stunden noch in der Verdünnung 1:20000, so daß hier wieder das Verhältnis 1:4 besteht.

Tabelle XX.

Staphylococcus albus von normaler Haut.

24 stündige $^1/_{100}$-Bouillonkultur. 2 Tropfen in Verdünnungen in Bouillon von

a) Chinin,
b) Isoamylhydrocuprein bihydrochl.,
c) Isoctylhydrocuprein bihydrochl.

Nach 2 Stunden und 24 Stunden bei 38° überimpft auf Agarplatten.

Verdünnungen	a) Chinin		b) Isoamyl		c) Isoctyl	
	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.
1: 2500	(+)	+++	0	0	0	0
1: 5000	(+)	+++	0	0	0	0
1: 10000	(+)	+++	0	0	0	0
1: 20000	(+)	+++	(+)	0	0	0
1: 40000	(+)	+++	(+)	+++	0	0
1: 80000	(+)	+++	(+)		0	0
1:160000	(+)	+++	(+)		(+)	+++
Kontrolle	(+)	+++				

Ganz allgemein ist in bezug auf den zeitlichen Verlauf der Desinfektionswirkung zu bemerken, daß nach unseren Erfahrungen nach den ersten 2 Stunden eine erhebliche Verschiebung nicht in allen Fällen stattfindet, sie kann auch völlig fehlen, im Gegensatz zu unseren Erfahrungen an Streptokokken.

Besonders interessant ist es bei diesem überaus empfindlichen Stamm, das Verhalten des Chinins zu beobachten, das selbst bei einer Verdünnung von 1:2500 keinerlei Hemmung ergibt. Die Wirkung des Chinins ist also 8 mal schwächer als die des Isoamylhydrocupreins und 32 mal schwächer als die der Isoctylverbindung.

Wir haben nun mit dem schon in Tabelle XVII enthaltenen Staphylococcus aureus 669 eine Serie vergleichender Ver-

suche im wesentlichen innerhalb der homologen Reihe des Hydrocupreins vorgenommen, und zwar vom Hydrochinin bis zum Dodecylhydrocuprein.

Sämtliche Versuche wurden statt in Ascites- oder Traubenzuckerbouillon in destilliertem Wasser vorgenommen, da die Salze der höheren Homologen von der Isoctylverbindung aufwärts in kochsalzhaltiger Bouillon[1]) in den hier (im Gegensatz zu den Streptokokkenversuchen) noch angewandten hohen Konzentrationen (von 1:10000 aufwärts) nicht genügend löslich sind. Wir schalteten die Übelstände, die sich aus dem selbst für die an sich resistenteren Staphylokokken wenig geeigneten Medium ergaben, dadurch aus, daß wir eine ungemein starke Beimpfung durchführten, nämlich mit 2 Tropfen gutbewachsener Bouillonvollkultur auf 2 ccm der betreffenden Verdünnung in destilliertem Wasser.

Tabelle XXI.

Staphylococcus aureus 669.

2 Tropfen Vollkultur in 2 ccm Verdünnungen in Aqua dest. von
a) Chinin hydrochl.,
b) Hydrochinin hydrochl.,
c) Optochin hydrochl.,
d) Isoamylhydrocuprein hydrochl.
Nach 2 und 24 Stunden bei 38° überimpft auf Agarplatten.

Verdünnungen	a) Chinin		b) Hydrochinin		c) Optochin		d) Isoamylhydrocuprein	
	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.
1: 500	+	0	++	+	0	0		
1: 1000	++	+	++	+	++	+++	0	0
1: 2000	+++	+++	++ (+)	++ (+)	++ (+)	+++	0	0
1: 4000	+++	+++	++ (+)	++ (+)	++ (+)	+++	++	0
1: 8000	+++	+++	++ (+)	++ (+)	++ (+)	+++	++	0
1: 16000	+++	+++	++ (+)	+++	++ (+)	+++	+++	++
1: 32000							+++	+++
1: 64000							+++	+++
Kontrollen	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Tabelle XXI zeigt, daß das Hydrochinin dem Chinin gegenüber, dessen Wirkung an und für sich eine sehr schwache

[1]) Im allgemeinen bildet die Ascitesbouillon ein relativ gutes Lösungsmittel für die Salze der Chinaalkaloide; offenbar wirken die Eiweißsubstanzen und Albumosen der Fällung entgegen.

ist — 1:500 tötet nach 24 Stunden ab — etwas zurücktritt. Das Optochin ist dem Chinin kaum überlegen. Auch hier bedarf es zur völligen Abtötung einer Verdünnung 1:500.

Es ist dies um so bemerkenswerter, als hier bei den Staphylokokken der einzige von uns bis jetzt beobachtete Fall vorliegt, in welchem dem Optochin jede Überlegenheit abgeht. Es ist dies ein ungemein charakteristisches Extrem gegenüber dem Verhalten der Pneumokokken.

Der gleichzeitig ausgeführte Versuch mit Isoamylhydrocuprein zeigt dessen erhöhte Wirkung, entsprechend den früheren Versuchen. Bei 1:8000 findet Abtötung statt; bei 1:10000 nur eine gewisse Hemmung.

Tabelle XXII setzt die Reihe vom Optochin über das Isopropyl-Isobutylhydrocuprein zum Isoamylhydrocuprein fort. Die Wiederholung des Optochin ergibt auch hier eine analog schlechte Wirkung wie in Tabelle XXI. Allerdings findet bei 1:1000 noch eine sehr erhebliche Wachstumshemmung statt. Die Isopropylverbindung zeigt als erste ein gewisses Ansteigen der Wirkung. Dieselbe steigert sich weiter bei der Isobutylverbindung, um dann noch etwas bei dem Isoamylhydrocuprein anzusteigen.

Tabelle XXII.

Staphylococcus aureus 669.

2 Tropfen Vollkultur in 2 ccm Verdünnungen in Aqua dest. von
a) Optochin hydrochl.,
b) Isopropylhydrocuprein hydrochl.,
c) Isobutylhydrocuprein hydrochl.,
d) Isoamylhydrocuprein bihydrochl.
Nach 2 und 24 Stunden bei 38° überimpft auf Agarplatten.

Verdünnungen	a) Optochin		b) Isopropyl		c) Isobutyl		d) Isoamyl	
	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.
1: 1000	0	3 Kol.	0	0	0	0	+	0
1: 2000	++(+)	+	++(+)	3 Kol.	+	0	+	0
1: 4000	++(+)	+++	++(+)	++	1 Kol.	0	+	0
1: 8000	++(+)	+++	+++	+++	++(+)	0	++	0
1:16000	+++	+++	+++	+++	+++	++	++(+)	3 Kol.
1:32000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Kontrolle	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Die Weiterführung des Versuches in Tabelle XXIII nimmt das Isoamylhydrocuprein mit seiner charakteristischen

Wirkung als Ausgangspunkt, zeigt dann kaum eine Steigerung beim Übergang zum Hexylhydrocuprein, dann einen erheblichen Anstieg bei dem Schritt zum Heptyl- und Octylhydrocuprein, der sogar bei dem letzteren über das gewöhnlich Beobachtete hinausgeht.

Tabelle XXIII.

Staphylococcus aureus 669.

2 Tropfen Vollkultur in 2 ccm Verdünnungen in Aqua dest. von
a) Isoamylhydrocuprein bihydrochl.,
b) Hexylhydrocuprein bihydrochl.,
c) Heptylhydrocuprein bihydrochl.,
d) Isoctylhydrocuprein bihydrochl.
Nach 2 und 24 Stunden überimpft auf Agarplatten.

Verdünnungen	a) Isoamyl		b) Hexyl		c) Heptyl		d) Isoctyl	
	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.
1 : 1000	1 Kol.	0	0	0	0	0	0	0
1 : 2000	13 "	0	6 Kol.	0	0	0	0	0
1 : 4000	12 "	0	3 "	0 [1])	0	0	0	0
1 : 8000	21 "	0	6 "	0 [1])	0	0	0	0
1 : 16000	++	8 Kol.	++	0	0	0	0	0
1 : 32000	++(+)	+++	+++	+++	0	0	16 Kol.	1 Kol.
1 : 64000	++(+)	+++	+++	+++	12 Kol.	0	++	1 "
Kontrolle	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Tabelle XXIV.

Staphylococcus aureus 669.

2 Tropfen Vollkultur in 2 ccm Verdünnungen in Aqua dest. von
a) Heptylhydrocuprein bihydrochl.,
b) Isoctylhydrocuprein bihydrochl.,
c) Decylhydrocuprein bihydrochl.,
d) Dodecylhydrocuprein bihydrochl.
Nach 2 und 24 Stunden bei 38° überimpft auf Agarplatten.

Verdünnungen	a) Heptyl		b) Isoctyl		c) Decyl		d) Dodecyl	
	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.
1 : 2000	0	0	0	0	0	0	0	0
1 : 4000	0	0	0	0	0	0	0	0
1 : 8000	0	0	2 Kol.	0	1 Kol.	0	0	0
1 : 16000	0	2 Kol.	1 "	0	6 "	0	0	0
1 : 32008	+	1 "	8 "	+(+)	6 "	++	3 Kol.	0
1 : 64000	+(+)	6 "	++	+++	++	++(+)	7 "	+++
1 : 128000	+++	+++	+++	+++	++	+++	+(+)	+++
Kontrolle	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

[1]) Eine Kolonie, wohl Verunreinigung.

Die Tabelle XXIV geht vom Heptylhydrocuprein aus, zeigt dann eine etwas geringere Wirkung des Octylhydrocuprein, eine weitere Verringerung beim Decylhydrocuprein, der wieder ein zweifelloser Anstieg beim Dodecylhydrocuprein folgt. Eine zweite gleichartige Versuchsreihe ergab dasselbe Resultat, in anderen Fällen sahen wir aber völlig gleiches Verhalten der Decyl- und Dodecylverbindung.

Fassen wir das Ergebnis dieses vergleichenden Versuchs zusammen, so zeigt sich vor allem, daß, wie schon erwähnt, hier das Optochin dem Chinin gegenüber keine größere Wirkung zeigt und daß es sich von der Wirkung des Hydrochinins nur deswegen etwas abhebt, weil dieses selbst einen Rückgang gegenüber dem Chinin aufweist. Es fehlt also hier jede Andeutung irgendeiner dominanten Rolle der Äthoxygruppe.

Vom Optochin an findet nun in der homologen Reihe ein Ansteigen der Staphylokokkenwirkung statt. Die hier gegebenen Zahlen sind natürlich nicht als ganz exakte absolute Werte anzusehen, aber sie stellen immerhin auf die einfachste Weise den Gang der Wirkungsunterschiede dar. Die Isopropylverbindung wirkt etwa zweimal stärker als Chinin und Optochin; die Isobutylverbindung bereits achtmal stärker. Bei der Isoamylverbindung wächst die Wirkung auf das Zehn- bis Zwölffache, bleibt dann etwa die gleiche bei der Hexylverbindung, um dann bei der Heptylverbindung ihr Maximum zu erreichen. Sie wird hier mehr als 40mal stärker als die Wirkung des Optochins und Chinins, also ein sehr erheblicher Anstieg. Das Octylhydrocuprein erweist sich als etwas weniger wirksam; dann findet ein weiteres Sinken statt beim Übergang zur Decylverbindung. Die Dodecylverbindung entspricht dieser oder zeigt einen gewissen erneuten Anstieg der Wirkung.

Wir haben nun versucht, einige Staphylokokkenstämme gegen das Isoctylhydrocuprein bihydrochloricum und das ebenso wirksame Isoctylhydrocuprein chinicum, gleichfalls ein gut lösliches Salz, zu festigen. Die Versuchsanordnung, die aus der Tabelle XXV ersichtlich ist, haben wir in derselben Weise durchgeführt, wie sie Tugendreich und Russo (l. c.) für die

Optochinfestigung der Pneumokokken beschrieben haben, die sehr leicht gelang.

Es wurden zunächst Verdünnungen von Isoctylhydrocuprein bihydrochloricum, wie wir es in den vorhergehenden Versuchen beschrieben haben, gemacht. Es wurden 2 ccm der Verdünnung von Isoctylhydrocuprein bihydrochloricum in Bouillon mit 2 Tropfen einer 24stündigen $^1/_{100}$-Bouillonkultur eines Staphylococcus aureus vermischt. Wir sehen nach 24 Stunden bei 38° eine stark hemmende Wirkung bei einer Verdünnung 1:40000, völlig unwirksam ist 1:80000. Für die nun folgende Versuchsreihe wurde die Mischung 1:80000 als Ausgangskultur genommen und davon 2 Tropfen in je 2 ccm Verdünnung von Isoctylhydrocuprein bihydrochloricum 1:2500 bis 1:80000 hinzugefügt. Die wirksame Konzentration bleibt dieselbe; die Verdünnung 1:40000 enthält Staphylokokken.

Tabelle XXV.

Festigungsversuch.

Staphylococcus aureus von normaler Haut.
24stünd. $^1/_{100}$-Bouillonkultur je 2 Tropf. in 2 ccm Verdünnungen von Isoctylhydrocuprein bihydrochloricum in gewöhnl. Bouillon. Nach 24 Std. 38° überimpft auf Agarplatten.

Passage	Verdünnungen:	1:2500	1:5000	1:10000	1:20000	1:40000	1:80000	Kontrolle
1	Agarplatten	0	0	0	0	(+)	+++	+++
	Aus d. Verdünnung 1:80000 2 Tropf. in 2 ccm Verdünn. von Isoctylhydrocuprein in Bouillon nach 24 Std. 38° überimpft auf							
2	Agarplatten	0	0	0	0	(+)	+++	+++
	Aus d. Verdünnung 1:40000 2 Tropf. usw. (wie oben)							
3	Agarplatten	0	0	0	++	+++	+++	+++
	Aus d. Verdünnung 1:20000 2 Tropf. usw. (wie oben)							
4	Agarplatten	0	0	0	0	0	++	+++
	Aus d. Verdünnung 1:80000 2 Tropf. usw. (wie oben)							
5	Agarplatten	0	0	0	0	0	+++	+++

Wir gingen nun von dieser Verdünnung aus und fanden, daß die Abtötung der Staphylokokken schon in einer Konzentration von 1:10000 stattfand. Das Röhrchen 1:20000 war ziemlich stark bewachsen, und es wurde demnach nach der dritten Reagensglaspassage die wirksame Konzentration des Isoctylhydrocuprein auf $^1/_2$ bis $^1/_4$ reduziert.

Die weitere Fortsetzung des Versuches zeigt aber, daß die Festigung nicht weitergeht, ja im Gegenteil, daß die Staphylokokken empfindlicher werden, so daß nach der vierten Reagensglaspassage die komplett abtötende Konzentration 1:40000 beträgt.

Sie ist also noch geringer als beim Ausgangsversuch.

Genau den gleichen Versuch haben wir mit drei verschiedenen Staphylokokkenstämmen sowohl mit dem Isoctylhydrocuprein chinicum wie bihydrochloricum ausgeführt und immer die gleichen Resultate erhalten. Im Gegensatz also zu den Pneumokokken, die nach wenigen Reagensglaspassagen gegen das hochwirksame Optochin so gefestigt werden können, daß die wirksame Konzentration des Optochins auf $^1/_{300}$ sinkt, lassen sich die Staphylokokken gegen das Isoctylhydrocuprein nicht festigen.

Es ist dies für die eventuelle praktische Anwendung der Verbindung bei Staphylokokkeninfektionen unter Umständen von großer Bedeutung. Weitere Versuche an den anderen Bakterienarten werden zeigen, ob hier den Staphylokokken, die bereits, wie erwähnt, im Gegensatz zu den Pneumokokken stehen, eine Ausnahmestellung im Vergleich auch zu Streptokokken usw. zukommt.

Über die Zusammensetzung des Blutes und über das Verhalten des Blutdruckes im Wüstenklima.

Von

J. Wohlgemuth.

(Eingegangen am 7. Dezember 1916.)

Im Frühjahr 1914 unternahmen die Herren Bickel, Loewy, Schweitzer und ich eine Expedition nach Ägypten zum Zwecke der Erforschung der physiologischen Wirkungen des Wüstenklimas auf den Menschen. Und zwar hatten wir uns die Aufgabe gestellt, während unseres Aufenthaltes in Ägypten in erster Reihe den Stoffwechsel, die Atmung, die Schweißbildung und die Blutzusammensetzung an uns selber zu studieren.

Wir hatten geplant, unsere Beobachtungen und Resultate in einer ausführlichen, zusammenhängenden Darstellung bekannt zu geben. Unter den jetzigen Verhältnissen ist uns das aber leider versagt, und wir müssen uns zunächst darauf beschränken, in kurzen Auszügen einen Teil der Ergebnisse festzulegen.

Über den Stoffwechsel im Wüstenklima hat in einer vorläufigen Mitteilung bereits Loewy [1]), über die Bedeutung der Mineralwasserzufuhr beim Aufenthalt in trockenen Klimaten mit besonderer Berücksichtigung der Nierenkranken hat bereits Bickel [2]) kurz berichtet.

Im folgenden sollen die Resultate der Blutuntersuchung, und zwar das Verhalten der Blutkörperchen, des Blutfarbstoffes, des Blutkochsalzes und des Blutzuckers, und ferner das Verhalten des Blutdruckes in der Hauptsache wiedergegeben wer-

---

[1]) A. Loewy, Verhandlungen der physiologischen Gesellschaft zu Berlin, Sitzung vom 12. Mai 1916, conf. Berl. klin. Wochenschr. 1916, Zeitschr. f. Balneologie, Klimatologie u. Kurort-Hygiene **9**, 43, 1916.

[2]) A. Bickel, Berl. klin. Wochenschr. 1916, Nr. 26.

den. Die Veröffentlichung mit dem grundlegenden Zahlenmaterial soll später im Zusammenhang mit den gesamten übrigen Ergebnissen der Expedition erfolgen.

1. Das Verhalten der Blutkörperchen.

Untersuchungen über das Verhalten des Blutbildes im Wüstenklima hat, wenn wir von anderen Autoren absehen, in ausgedehntem Maße Schieffer[1]) an Europäern sowohl wie an Eingeborenen angestellt. Er fand bei beiden Gruppen durchgehends eine Steigerung der Erythrocytenzahl. Bei 72 gesunden, der arbeitenden Klasse angehörigen Arabern stellte er eine Erythrocytenzahl von durchschnittlich 5,53 Millionen fest, darunter 17 Fälle (= 27%) mit über 6—6,7 Millionen. Bei den von ihm untersuchten Europäern war eine langsam ständige Vermehrung der Erythrocyten meist bis und über 1 Million zu konstatieren. — Die Zahl der Leukocyten zeigte bei den Europäern und Arabern keine Abweichung von der Norm. — Was aber den Hämoglobingehalt anbetrifft, so stand er bei den Europäern in keinem Verhältnis zu der Erythrocytenzahl. Denn er betrug bei Männern meist unter 80%, bei den Frauen unter 70%. Noch niedriger waren die Werte für den Blutfarbstoff bei den Eingeborenen, nämlich durchschnittlich 77,5%; bei einer ganzen Anzahl wurde sogar nur 60 bis 65% Hämoglobin gefunden bei einem Gehalt von weit über 5 bis 6 Millionen roter Blutkörperchen.

Unsere Untersuchungen, die sich nur auf 3 Mitglieder der Expedition erstreckten, hatten kurz folgendes Ergebnis:

		Rote Blutkörperchen	Weiße Blutkörperchen	Hämoglobin
Loewy . . .	Heluan . .	4540000	6000	95%
	Assuan . .	4840000	5600	108%
Schweitzer .	Heluan . .	4900000	4800	100%
	Assuan . .	5680000	6000	106%
Wohlgemuth	Heluan . .	4900000	8400	96%
	Assuan . .	5004000	9200	105%

Wir sehen bei allen 3 Versuchspersonen, übereinstimmend mit dem Befunde von Schieffer, eine Zunahme der roten

[1]) Schieffer, Verhandlungen des Kongresses für innere Medizin 28, 597, 1911.

Blutkörperchen. Sie ist um so bemerkenswerter, als die Untersuchung in Assuan bereits 10 Tage nach der Untersuchung in Heluan erfolgte. — Auch bezüglich der weißen Blutkörperchen ist die Tendenz einer Zunahme deutlich erkennbar. — In direktem Gegensatz zu Schieffers Beobachtungen ist bei sämtlichen 3 Personen, entsprechend der Zunahme der Erythrocyten, auch der Hämoglobingehalt deutlich erhöht.

Wir haben somit ein gleiches Verhalten des Blutbildes in der Wüste, wie es durchgehends als charakteristisch für das Höhenklima beschrieben ist, nämlich Vermehrung der Erythrocyten mit gleichzeitiger Zunahme des Hämoglobingehaltes. Diese Übereinstimmung in der Wirkung des Wüsten- und des Höhenklimas ist immerhin bemerkenswert, und es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß hier wie dort als Ursache dafür die starke Belichtung eine wesentliche Rolle spielt.

Daß der intensive Lichtreiz als solcher fördernd auf die Produktion der blutbildenden Organe einwirkt, hat inzwischen auch seine experimentelle Bestätigung gefunden in den interessanten Versuchen, die Bickel und Tasawa[1]) an Kaninchen angestellt haben. Sie benutzten zu ihren Belichtungsversuchen eine starke Quecksilberbogenlampe und konnten feststellen, daß bei ihren Versuchstieren, entsprechend der Dauer der Bestrahlung, die Zahl der roten Blutkörperchen wie der Hämoglobingehalt des Blutes stetig zunahmen. Das war allerdings nur der Fall bei braunen Kaninchen; bei Albinos zeigte sich diese Veränderung nicht in dem Maße.

Schieffers Beobachtung — Zunahme der Erythrocyten, Abnahme des Hämoglobingehaltes — würde nichts weniger bedeuten als eine Abartung der roten Blutkörperchen, wie sie für die Chlorose charakteristisch ist. Diese Befunde ließen sich vielleicht so erklären, daß unter dem Einfluß der starken Belichtung in der Wüste ein starker und schneller Zerfall der Erythrocyten eintritt, und daß die blutbildenden Organe den Verlust an roten Blutkörperchen zunächst mit normalen Erythrocyten zu kompensieren sich bestreben. Solange dies der Fall ist, würde das betreffende Individuum eine Zunahme der Erythrocyten mit gleichzeitiger Vermehrung des Hämoglobin-

---

[1]) A. Bickel und Tasawa, Charité-Annalen, Jahrg. 37, 1913.

gehaltes aufzuweisen haben. Man könnte sich nun denken, daß bei weiterer starker Inanspruchnahme des hämatopoetischen Apparates eine Schwächung eintritt, daß zwar noch weiter Erythrocyten gebildet werden, aber mit einem geringeren Hämoglobingehalt als früher. Wir hätten dann als Endprodukt das Blutbild, wie es Schieffer beschreibt, Vermehrung der Erythrocyten und Verminderung des Hämoglobingehaltes. Merkwürdig bleibt aber dann, daß auch die Eingeborenen, die sich doch der ständigen intensiven Bestrahlung angepaßt haben müßten, ebenfalls neben einer Vermehrung der Erythrocyten einen stark herabgesetzten Hämoglobingehalt in ihrem Blute zeigen. Weitere ausgedehnte Untersuchungen scheinen deshalb noch wünschenswert.

Man könnte nun daran denken, daß die Zunahme der Erythrocyten gewissermaßen vorgetäuscht ist durch eine gleichzeitig einhergehende Eindickung des Blutes, deren Annahme ja angesichts der enormen starken Verdunstung in der Wüste nicht fernliegt. Auch beim Höhenklima hat eine Reihe von Autoren die Zunahme der Erythrocyten auf den nämlichen Faktor zurückführen wollen. Hier haben aber eingehende Untersuchungen des Blutserums von A. Loewy[1]) in Gemeinschaft mit J. Loewy und L. Zuntz gezeigt, daß nicht nur keine Konzentrationserhöhung, sondern vielmehr eine geringe Abnahme der Blutdichte im Höhenklima besteht. — Wir hatten gerade zur Aufklärung dieses Punktes refraktometrische Blutuntersuchungen geplant und bereits begonnen. Leider konnten wir sie nicht lange genug durchführen, da uns durch ein Mißgeschick das Prisma des Refraktometers, das uns die Firma Zeiß in Jena in der liebenswürdigsten Weise zur Verfügung gestellt hatte, abhanden kam. Immerhin bieten die folgenden Ergebnisse der Blutkochsalz- und Blutzuckerbestimmung Anhaltspunkte genug dafür, daß eine Konzentrationsänderung des Blutes in nennenswertem Maße nicht eingetreten sein kann.

2. Verhalten des Blutkochsalzes.

Über den Kochsalzstoffwechsel des Wüstenklimas ist bisher nichts Sicheres bekannt. Nur hier und da begegnet man in

[1]) A. Loewy in Gemeinschaft mit J. Loewy und L. Zuntz, Arch. f. d. ges. Physiol. 66, 477, 1897.

der Literatur Betrachtungen über diesen Punkt, die aber, da sie jeder sicheren experimentellen Grundlage entbehren, nur einen hypothetischen Charakter haben können. Wir haben es uns deshalb u. a. zur Aufgabe gemacht, gerade in dieser Frage, als eine der wichtigsten, experimentell gesicherte Tatsachen zu bringen.

In unseren Stoffwechselversuchen, die wir in Heluan sowohl wie in Assuan an uns allen anstellten, nahmen wir neben der genau analysierten Nahrung, mit der wir uns in Stickstoffgleichgewicht setzten, genau gewogene Mengen Kochsalz zu uns, bestimmten die Kochsalzausscheidung durch die Nieren und durch die Haut und kontrollierten gleichzeitig den Kochsalzgehalt im Blute. Dabei leitete uns der Gedanke, daß etwaige erhebliche Schwankungen in der Kochsalzausscheidung, vielleicht auch in Schwankungen des Kochsalzspiegels im Blute zum Ausdruck kommen würden.

Auf die Resultate bezüglich der Kochsalzausscheidung durch die Nieren näher einzugehen, darf ich mir versagen, zumal Bickel bereits in seiner oben zitierten Mitteilung einzelne diesbezügliche Daten mitgeteilt hat. Nur so viel sei gesagt, daß in keinem einzigen Falle eine Steigerung der Salzausscheidung durch den Harn stattfand, daß vielmehr die Neigung des Körpers besteht, im Wüstenklima eher Salz zurückzuhalten als abzugeben.

Was die Kochsalzausscheidung durch die Haut anbetrifft, so wird im allgemeinen angenommen, daß sie entsprechend der gesteigerten Wasserausgabe erhöht sei. Dabei geht man von der Ansicht aus, daß die Steigerung der Wasserabgabe durch die Haut im Wüstenklima bewirkt wird durch die Steigerung der Schweißproduktion. Wir fanden nun aber, daß diese Anschauung nicht zutrifft, daß vielmehr die gesteigerte Wasserabgabe durch die Haut im wesentlichen beruht auf einer gesteigerten physikalischen Verdunstung des Wasserdampfes. Dementsprechend war die Kochsalzausscheidung durch die Haut gar nicht oder nur sehr wenig gegen die Berliner Werte erhöht.

Es galt nun zu entscheiden, ob das retinierte Kochsalz eine Erhöhung des Kochsalzspiegels im Blute zur Folge hat oder nicht.

Wir untersuchten das Blut bei allen Teilnehmern der Expedition während aller Versuchsperioden auf seinen Kochsalzgehalt und verwandten hierfür die Mikromethode von Bang, die sich uns gut bewährte.

Ein Teil der Resultate sei in der folgenden Tabelle zusammengestellt; das gesamte Zahlenmaterial soll der ausführlichen Publikation vorbehalten bleiben.

	Heluan	Assuan		Berlin
		in Ruhe	nach 5 stündigem Ritt in die Wüste	
Bickel	0,527 %	0,507 %	0,527 %	0,512 %
Loewy	0,525 %	0,528 %	0,570 %	0,520 %
Wohlgemuth .	0,519 %	0,515 %	0,526 %	0,538 %
Schweitzer . .	0,521 %	0,536 %	0,521 %	—

Aus der Tabelle geht hervor, daß zunächst bei Bickel sich der Kochsalzgehalt des Blutes in allen Versuchsperioden stets auf der gleichen Höhe hält, ebenso bei Schweitzer. Leider waren wir bei ihm durch äußere Umstände nicht in der Lage, auch den Kochsalzgehalt der Blutes in der Berliner Versuchsperiode zu bestimmen; aber während des Aufenthaltes in Ägypten zeigte sich bei ihm niemals eine wesentliche Verschiebung. — Auch bei Wohlgemuth sind die Zahlen für Heluan und Assuan gut übereinstimmend; nur der Berliner Wert ist gegenüber den andern Werten etwas erhöht. Das findet seine Erklärung vielleicht darin, daß Wohlgemuth unmittelbar vor dem Versuch in Berlin sehr salzarm gelebt hatte, während des Kontrollversuches aber wegen ausgesprochenen Salzbedürfnisses mehr Kochsalz zu sich nahm als in Heluan und Assuan. Aber das ändert nichts an der Tatsache, daß während des Aufenthaltes in der Wüste der Kochsalzgehalt des Blutes konstant blieb. — Bei Loewy zeigte sich ein einziges Mal der Kochsalzgehalt des Blutes stark vermehrt. Das war im Anschluß an einen sehr anstrengenden 5 stündigen Eselsritt in die Wüste, an dem wir alle weder Nahrung noch Wasser zu uns nahmen. Während die 3 andern Teilnehmer am Schluß des Rittes — das Blut wurde unmittelbar nach der Rückkehr in das Zeltlager entnommen und analysiert — keine Erhöhung des Kochsalzgehaltes zeigten, war bei Loewy, den der Ritt

besonders angegriffen hatte, der Kochsalzgehalt beträchtlich erhöht. Das war aber nur vorübergehend; denn schon am nächsten Tage war der Wert wieder ein normaler. — Zusammenfassend können wir also sagen, daß das Blut mit großer Zähigkeit seine Kochsalzkonzentration auch unter den veränderten Lebensbedingungen in der Wüste festzuhalten sucht, und daß, wenn wirklich einmal unter besonderen Umständen eine Abweichung von der Norm eingetreten ist, diese in kürzester Zeit wieder ausgeglichen wird.

Es fragt sich nun, wo bleibt das im Körper zurückgehaltene Kochsalz, wenn es nicht im Blute aufgespeichert wird?

Darüber geben uns Tierversuche Aufschluß, die von Bickel[1]), Sasaki[2]), Wahlgren[3]) und Padtberg[4]) teils an Hunden, teils an Kaninchen angestellt waren. Bickel fand, daß bei Hunden nach doppelseitiger Nierenexstirpation der Salzgehalt des Blutserums sich nicht ändert, und daß auch bei der menschlichen Urämie das Blut keine Verschiebung in seinen Salzmengen erfährt. Sasaki konnte das gleiche für urannephritische Kaninchen feststellen und ferner den analytischen Beweis dafür erbringen, daß die mit Uran vorbehandelten Kaninchen und solche mit doppelseitiger Nierenexstirpation in ihren gesamten Körpergeweben -- mit Ausnahme von Haut, Blut, Ascitesflüssigkeit, Magendarminhalt und Urin — keinen größeren Kochsalzvorrat besitzen als die Kontrolltiere. Wahlgren und Padtberg stellten dann definitiv fest, daß die Haut als Kochsalzspeicher für den normalen Körper zu gelten hat.

Mit diesen experimentellen Befunden stehen unsere Beobachtungen am Menschen in gutem Einklang, und wir werden demnach annehmen müssen, daß, soweit Kochsalz vom Men-

---

[1]) A. Bickel, Verhandlungen des XX. Kongresses für innere Medizin und Deutsche med. Wochenschr. 1902.

[2]) K. Sasaki, Virchows Archiv **183**, 180, 1906.

[3]) V. Wahlgren, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **61**, 97, 1909.

[4]) J. H. Padtberg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **63**, 60, 1910.

schen unter dem Einfluß des Wüstenklimas im Körper zurückgehalten wird, dieses wie beim Tier vor allen Dingen in der Haut deponiert wird.

3. Verhalten des Blutzuckers.

Ebensowenig wie über das Verhalten des Kochsalzes ist über das des Blutzuckers im Wüstenklima bekannt. Das hat wohl seinen Grund darin, daß das Studium des Blutzuckers noch sehr jungen Datums ist, und daß man bisher ausschließlich für den Diabetes aus ihm Schlüsse zu ziehen vermag. Diabetiker hat man aber meines Wissens bis jetzt noch nicht nach Ägypten geschickt, wenngleich neuerdings Stimmen laut geworden sind, die auch dem Diabetiker den Aufenthalt im Wüstenklima empfehlen.

Wir verfolgten mit der Bestimmung des Blutzuckers einen ähnlichen Zweck wie mit der Bestimmung des Blutkochsalzes. Die Werte sollten uns dazu dienen, etwaige Änderungen in der Blutkonzentration festzustellen und vielleicht einen Hinweis auf Änderungen im Zuckerstoffwechsel zu geben.

Als Methode der Blutzuckerbestimmung diente uns das Bertrandsche Verfahren, kombiniert mit dem Enteiweißungsverfahren von Rona und Michaelis, in der Abänderung, wie sie Kowarski[1]) für kleine Blutmengen angegeben hat.

Auch aus dieser Versuchsreihe sei nur ein Teil der Resultate in folgender Tabelle zusammengestellt.

	Heluan	Assuan	Berlin
Bickel	0,065 %	0,075 %	0,07 %
Loewy	0,121 %	0,115 %	0,11 %
Wohlgemuth	0,075 %	0,085 %	0,07 %
Schweitzer	0,061 %	0,063 %	—

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß bei Bickel und Wohlgemuth während des Aufenthaltes in Ägypten sich der Blutzuckergehalt, abgesehen von geringen in der physiologischen Breite liegenden Schwankungen, auf gleicher Höhe hält. Auch gegenüber dem Werte in Berlin läßt sich kein Unterschied erkennen. Während der Blutzucker von B. und W. ein normaler

[1]) A. Kowarsky, Deutsche med. Wochenschr. 1913, 34.

ist, ist der Wert für Schweitzer ein auffallend niedriger. Worauf das zurückzuführen ist, läßt sich nicht mit Sicherheit sagen. Leider hatten wir nicht Gelegenheit, auch seinen Blutzucker in Berlin festzustellen. — Der über die Norm erhöhte Blutzucker von Loewy erklärt sich daraus, daß L. früher eine Zeitlang Spuren von Zucker durch den Harn ausschied, dann aber seit 26 Jahren bis auf zeitweilige alimentäre Glucosurie vollkommen zuckerfrei geblieben ist. Offenbar ist bei ihm von der Konstitutionsanomalie als Rest die Hyperglykämie verblieben, die noch immer auf eine leichte Störung im Zuckerstoffwechsel hinweist. Aber auch bei ihm waren Schwankungen in den Blutzuckermengen nicht zu konstatieren; die Zahlen in Ägypten stimmen gut mit dem Berliner Wert überein.

Es hat sich also auch bezüglich des Blutzuckers bei sämtlichen Versuchspersonen gezeigt, daß das Blut das Bestreben hat, an den Werten, auf die es sich einmal eingestellt hat, festzuhalten.

Diese Tatsache ist auch nach einer andern Richtung hin bemerkenswert. Embden, Lüthje und Liefmann[1]) geben an, in Versuchen an Hunden einen Einfluß der Außentemperatur auf den Blutzuckergehalt festgestellt zu haben derart, daß der Blutzuckergehalt sich umgekehrt proportional der Außentemperatur verhält. Denn wenn sie die Tiere (Hund, Versuch 4) bei niedriger Außentemperatur (+ 3° C.) hielten, fanden sie einen sehr hohen Blutzuckerwert (0,103 %), während umgekehrt dasselbe Tier bei einer sehr hohen Außentemperatur (+ 30° C.) einen außerordentlich niedrigen Wert (0,064 %) aufwies. Ein andres Tier (Versuch 5) hatte bei 32° C. einen Blutzuckergehalt von 0,057 % und bei + 5° C. einen Blutzuckerwert von 0,098 %.

Hiernach hätte man, vorausgesetzt, daß der Mensch sich in dieser Beziehung ebenso verhält wie der Hund, erwarten dürfen, daß wir während unseres Aufenthaltes in Ägypten (bei Assuan), wo wir Schattentemperaturen von 41° C. und Sonnentemperaturen bis 61° C. erlebten, gleichfalls einen besonders niedrigen Blutzucker haben würden. Das war aber, wenn wir von

[1]) Embden, Lüthje und Liefmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **10**, 265, 1907.

Schweitzer absehen, für den uns der Berliner Wert zum Vergleich fehlt, bei keinem von uns zu konstatieren. Die Blutzuckerwerte in Assuan sind eher höher als in Berlin. Es trifft somit keineswegs das für den Menschen zu, was Embden, Lüthje und Liefmann für den Hund angeben.

Ich möchte indes bei dieser Gelegenheit nicht verfehlen, darauf hinzuweisen, daß mir selber der Nachweis einer solchen Beziehung zwischen Außentemperatur und Blutzucker bei Hunden bisher meistens nicht geglückt ist. Im März und April 1912 habe ich zum Teil in Gemeinschaft mit Herrn Dr. Henry Rawle Geyelin aus Villa Nova (Pennsylvanien) bei einer Reihe von Hunden gleichfalls derartige Hitze- und Kälteversuche ausgeführt, aber in der Mehrzahl der Fälle ein entgegengesetztes Resultat gefunden, nämlich bei hoher Außentemperatur — hoher Blutzucker, bei niedriger Außentemperatur — niedriger Blutzucker. Oft war auch kein Unterschied zwischen hoher und niedriger Temperatur zu konstatieren. Die Versuche sind aus äußeren Gründen bisher nicht publiziert worden. — Später haben dann auch H. Bierry und L. Faudard[1]) das gleiche wie wir gefunden.

4. Das Verhalten des Blutdruckes.

Das Verhalten des Blutdruckes in Ägypten ist naturgemäß schon öfters Gegenstand der Untersuchung gewesen, und alle Autoren, die sich mit dieser Frage beschäftigten, kamen übereinstimmend zu dem Resultat, daß der Blutdruck unter dem Einfluß des Wüstenklimas sinkt (Engel-Bey, Schieffer, Schacht u. a.). Wir haben diese Beobachtung nur bestätigen können. Aus den mit Hilfe des Riva-Rocci gewonnenen Zahlen greife ich als Beispiel für jeden Ort nur eine heraus und stelle sie in folgender Tabelle zusammen.

Die auf der Dampferfahrt von Neapel nach Port Said festgestellten Werte können schon als gegen die Norm erniedrigt gelten, da nach den interessanten Untersuchungen von Loewy, Müller, Cronheim und Bornstein[2]) der Blutdruck an der

---

[1]) H. Bierry und L. Faudard, Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. 1913, No. 25.

[2]) Loewy, Müller, Cronheim und Bornstein, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 7, 1, 1907.

	Dampfer			Heluan			Assuan		
	Systol. Druck	Diastol. Druck I	Diastol. Druck II	Systol. Druck	Diastol. Druck I	Diastol. Druck II	Systol. Druck	Diastol. Druck I	Diastol. Druck II
Bickel . . .	117	98	—	117	100	82	116	90	72
Loewy . .	130	116	—	122	105	80	120	100	80
Wohlgemuth	128	95-100	—	118-120	100	80	114-116	98	70—80
Schweitzer .	116	90	—	110	86	—	92	70—80	—
Wauer . .	142	96-100	—	—	—		136-138	110	—

See die deutliche Tendenz zeigt, gegenüber dem auf dem Kontinent herabzugehen.

Vergleichen wir die später in Ägypten gefundenen Werte mit den Ausgangszahlen, so sehen wir bei allen 4 Teilnehmern der Expedition ein Absinken des Druckes gegen die auf der See gefundenen Werte. Besonders deutlich tritt dies zutage bei Schweitzer und Wohlgemuth und ebenso bei Loewy, während bei Bickel eigentlich nur der diastolische Druck heruntergeht.

Herr Dr. Wauer aus Zittau, dessen Bekanntschaft wir auf dem Dampfer machten, und dem wir später wieder in Assuan begegneten, stellte sich uns für unsere Blutdruckuntersuchungen in der liebenswürdigsten Weise zur Verfügung. Die bei ihm festgestellten Zahlen waren für uns insofern besonders wertvoll, als er infolge Arteriosklerose einen über die Norm erhöhten Blutdruck zeigte. Bei ihm war nur eine geringe Abnahme des systolischen Blutdruckes in Assuan gegenüber dem auf dem Schiff ermittelten zu beobachten, während der diastolische Druck eine deutliche Zunahme aufzuweisen hatte.

Wie hat man sich nun das Absinken des Blutdruckes bei gesunden Individuen zu erklären? Doch offenbar so, daß infolge der hohen Lufttemperatur und der intensiven Bestrahlung in Ägypten eine mächtige Hyperämie der Haut sich entwickelt, und daß infolge der ständigen Erweiterung der Hautgefäße der Widerstand in der Peripherie des Gefäßsystems abnimmt und das Blut nach der Körperoberfläche abströmt. Die Folge davon ist, daß der Druck im arteriellen System sinkt. Es findet somit unter dem Einfluß der veränderten Blutzirkulation eine Entlastung des Herzens statt.

Eine solche Wirkung wird gewiß in all den Fällen er-

wünscht sein, wo beispielsweise infolge pathologischer Veränderungen im renalen System der Blutdruck gesteigert ist.

Weniger angenehm dürfte sie sein, wo bereits eine Herzschwäche besteht. Denn man muß sich darüber klar sein, daß, wenn das Blut in einem erweiterten Strombette fließt, die Möglichkeit, es mit genügender Schnelligkeit umzutreiben, erschwert ist, also die Bedingungen für die Aufrechterhaltung einer genügenden Zirkulationsgeschwindigkeit verschlechtert sind. Bei bestehender Herzschwäche wäre also ein Aufenthalt in Ägypten kontraindiziert, eine Auffassung, zu der auch auf empirischem Wege alle in Ägypten praktizierenden Ärzte gekommen sind.

Die auffallende Abweichung, die der Arteriosklerotiker in seinem diastolischen Druck gegenüber den entsprechenden Werten der andern zeigt, bedarf noch der weiteren Aufklärung. Leider hatten wir weder Zeit noch Gelegenheit, andere derartige Fälle zu untersuchen. Erst wenn sich zeigen wird, daß unser Befund sich konstant wiederholt, werden Betrachtungen über seine physiologische und pathologische Bedeutung am Platze sein.

Dem Kuratorium der Gräfin Bose-Stiftung, das uns für die Expedition eine größere Summe zur Verfügung stellte, sagen wir auch an dieser Stelle verbindlichsten Dank.

Über die Zulässigkeit der Calorie als physiologische Maßeinheit.

Von

Carl Oppenheimer (Berlin-Grunewald).

(Eingegangen am 9. Dezember 1916.)

Die Benutzung der Calorie als Maßstab für den physiologischen Energieumsatz in der lebenden Substanz geht in letzter Linie auf Lavoisier zurück. Dieser gab zuerst der Meinung Ausdruck, daß auch der Stoffwechsel des lebenden Körpers nichts anderes sei als eine Verbrennung der ihm zugeführten Nahrungsmittel, und sprach auch zuerst die Vermutung aus, daß die Wärmemengen, welche die Nahrungsstoffe innerhalb des lebenden Körpers bei ihrer völligen Vereinigung mit Sauerstoff liefern können, dieselben sein müssen, wie sie die Verbrennung der Stoffe außerhalb des Körpers durch direkte Verbrennung erzeugt. Diese Vermutung ist dann späterhin durch zahlreiche Arbeiten zu einer exakten Gewißheit erhoben worden. Damit ist also die Calorie zweifellos als ein physiologischer Maßstab von großer und sicherer Verwendbarkeit erwiesen worden. Aber man darf dabei die Hauptsache nicht übersehen, daß es sich bei allen diesen Feststellungen zunächst um die Messung der Umsetzungen der Gesamtenergie, also der Wärme, handelt. Eine ganz andere Frage aber ist es, ob die Calorie als Maßstab auch dann anwendbar ist, wenn wir die Arbeitsleistungen des Körpers messen. Es erhebt sich dabei die Frage, ob eine bestimmte Calorienmenge an zugeführten Nährstoffen bei größtmöglichem Umsatz immer die Leistung einer gewissen Menge von Arbeit ermöglicht, die in einem festen zahlenmäßigen Verhältnis zu der umgesetzten Calorienmenge steht. Bis vor relativ kurzer Zeit ist die Frage, ob die Calorie auch als Maßstab für die Arbeitsleistungen des

Körpers zulässig ist, eigentlich nur vereinzelt und ohne großen Nachdruck gestellt worden. In der Tat arbeitet ja heute noch die gesamte Stoffwechselphysiologie, auch wenn sie sich mit den Arbeitsleistungen des Körpers beschäftigt, immer noch ohne besondere Kritik mit dem Maßstab der Calorie.

Es hängt diese fast widerspruchslose Anerkennung des calorischen Maßstabes eng mit der Tatsache zusammen, daß die überwiegende Mehrzahl der Physiologen ebenfalls bis vor ganz kurzer Zeit ohne weitere Kritik an der überlieferten Anschauung festhielt, es sei der menschliche Organismus eine Maschine, die auf Kosten der zunächst gebildeten Wärme Arbeit leisten könne; es sei mit anderen Worten der menschliche Organismus eine calorische Maschine prinzipiell ähnlicher Art, wie es eine Dampfmaschine oder ein Benzinmotor ist. Es sei vorausgeschickt, daß selbst unter der Annahme, die menschliche Maschine arbeite nach calorischen Prinzipien, erzeuge ihre lebendige Energie sekundär aus bereits gebildeter Wärme, durchaus nicht ohne weiteres sicher ist, daß wir nunmehr auch die Calorie als einen feststehenden Maßstab dafür annehmen können, wie sich die einzelnen Nahrungsmittel bei calorisch gleichem Werte in bezug auf die Lieferung von mechanischer (resp. osmotischer) Arbeit verhalten; wir werden vielmehr im Verlaufe unserer Auseinandersetzung darauf hinzuweisen haben, daß selbst unter dieser Annahme es durchaus nicht nötig ist, daß calorisch gleiche Mengen von Nährstoffen auch dieselbe lebendige Kraft in der Arbeitsleistung abgeben.

Noch viel energischer aber wird die theoretische Bedeutung der Calorie als Maßstab für die Arbeitsleistungen der lebenden Substanz dann erschüttert, wenn wir, wozu wir durch die moderne Entwicklung der Physiologie mit größter Wahrscheinlichkeit gezwungen sind, von der Auffassung überhaupt abgehen, es wäre der Organismus Mensch eine calorische Maschine. Wenn wir demgegenüber zu der Theorie übergehen, daß die Arbeitsleistungen der lebendigen Substanz direkt aus der chemischen Energie der ihr zugeführten Nährstoffe entstehen, ohne erst den Umweg über primär gebildete Wärme einzuschlagen, wenn wir also die lebende Substanz als eine chemodynamische Maschine im Sinne Ficks auffassen, und wenn wir in weiterer Folge davon annehmen, daß die

Wärmeausgaben der lebenden Substanz zum Teil aus einem unvollkommenen Verlauf der Umsetzung von chemischer Energie in lebendige Kraft entstehen, zum Teil ganz sekundär durch Reibung sich aus verbrauchter Bewegungsenergie bilden, so ist von vornherein der Calorie als Maßstab die theoretisch sichere Basis entzogen. Wenn wir eine Transformation von chemischer Energie in Arbeit annehmen, die nicht auf dem Umwege über Wärme verläuft, so ist das Ergebnis an Arbeit nicht eine Funktion der Umsetzung von gesamter Energie, wie sie die Wärmeumsetzungen darstellen, sondern eine Funktion der Abnahme von freier Energie, deren zahlenmäßige Beziehung zur Abnahme der Gesamtenergie eine durchaus verschiedene sein kann, je nach der Art der chemischen Prozesse und je nach den Bedingungen der Leitung der chemischen Prozesse, die eben zur Freisetzung von arbeitsleistender Energie führen.

In Anbetracht der großen Wichtigkeit dieser prinzipiellen Frage, und weil man nicht bei jedem Leser ohne weiteres die Kenntnis der verschiedenen Möglichkeiten der Energietransformation bei chemischen Umsetzungen voraussetzen kann, erscheint es notwendig, in einigen einleitenden Worten diese Grundfragen klarzustellen, soweit sie für das hier zu behandelnde Thema von Wichtigkeit sind.

Wenn wir eine chemische Reaktion verlaufen sehen, die von selbst eintritt, d. h. ohne irgendwelche Zufuhr anderer Energie von außen her, so verschwindet ein Teil der chemischen Energien, die vorher in den reagierenden Stoffen aufgehäuft waren, und es treten an deren Stelle neue Energieformen auf, und zwar nach den Bedingungen des ersten Hauptsatzes in dem Maße, daß die Summe der neu entstandenen Energien gleich der Gesamtabnahme der chemischen Energie sein muß. Diejenige Energieform nun, die am leichtesten und am offenkundigsten bei den allermeisten chemischen Reaktionen auftritt, ist die Wärme. Aus diesem Grunde ist es ohne weiteres klar, daß man sie am meisten beobachtete, als man überhaupt anfing, sich mit den Energieumwandlungen bei chemischen Prozessen zu beschäftigen, und daß man die Wärmebildung bei chemischen Vorgängen infolgedessen in viel zu weit gehender Weise in den Vordergrund schob. Man nahm

die Wärmebildung bei einem chemischen Vorgang geradezu als das Maß der chemischen Verwandtschaft oder Affinität. Insbesondere war es Berthelot, der die möglichst große Wärmebildung als den Maßstab der chemischen Verwandtschaft und der möglichen chemischen Reaktionen hinstellte. Obwohl er schon in merkwürdiger Voraussicht dem Worte nach die „maximale Arbeit“ (le travail maximum) als den Maßstab hinstellte, nach dem sich chemische Reaktionen vollziehen sollten, so hat er doch dem Sinne nach durchaus die Wärme in den Vordergrund gestellt. Das berühmte Berthelotsche Gesetz besagt im wesentlichen, daß von allen möglichen chemischen Reaktionen immer diejenigen auftreten, bei denen die gesamte, bei Ausschluß äußerer Arbeit erzeugte Wärmemenge, die sog. Wärmetönung, ein Maximum darstellt. Dieses Berthelotsche Gesetz hat ein Menschenalter hindurch die chemische Verwandtschaftslehre beherrscht und war um so schwerer zu beseitigen, als es tatsächlich in den allermeisten Fällen bei solchen Reaktionen fast quantitativ stimmt, die von selbst bei niedriger Temperatur und ohne meßbare Gleichgewichte, d. h. vollständig verlaufen, also bei sehr vielen und gerade den gebräuchlichsten chemischen Vorgängen. Es hat harter und mühseliger Arbeit bedurft, um allgemein die Überzeugung zu verbreiten, daß dieses Berthelotsche Prinzip kein Naturgesetz ist, sondern eben nur ein in sehr vielen Fällen praktisch zulässiger Maßstab. Es war schwer, die Stellung dieses Satzes zu erschüttern, trotzdem sich einige Fälle ohne weiteres auffinden lassen, die absolut und unzweifelhaft gegen das Berthelotsche Prinzip verstoßen, nämlich einige Reaktionen, die spontan auch bei niedrigeren Temperaturen auftreten und dabei Wärme aufnehmen.

Es hat sich als unbedingt notwendig herausgestellt, wollte man die Gesetze der Energietransformationen bei chemischen Reaktionen wirklich in ein theoretisches System bringen, die unbegründete Vorherrschaft des Wärmeprinzipes gänzlich zu beseitigen und ein ganz anderes Prinzip an seine Stelle zu setzen, nämlich das, was Berthelot dem Worte nach bereits vorausgesagt hatte, die Arbeitsleistung einer chemischen Reaktion. Wir können also bei den ersten theoretischen Grundlegungen von den begleitenden Wärmeverschiebungen bei

einer Reaktion vollkommen absehen und sagen, daß es bei sonst gleichen Bedingungen ausschließlich die Arbeitsleistung ist, die das Eintreten einer Reaktion und ihren Umfang bestimmt, gleichgültig, ob dabei nebenher noch Wärme abgegeben oder aufgenommen wird, oder ob die Reaktion überhaupt ohne jede Wärmeverschiebung verläuft. In der Tat ist nach den Arbeiten von Van 't Hoff und Nernst die maximale Arbeit einer Reaktion unter sonst gleichen Bedingungen geradezu das Maß der Affinität, d. h. gleich dem Bestreben der beiden Stoffe, bei gegenseitiger Berührung ihr bisheriges Gleichgewicht aufzugeben und ein neues Gleichgewicht zu bilden, was eben das Wesen einer chemischen Reaktion ausmacht.

Am einfachsten liegen die Verhältnisse dann, wenn es gelingt, eine chemische Reaktion so zu leiten, daß der gesamte Verlust an chemischer Energie sich in andere Energieformen umsetzt, ohne daß dabei überhaupt irgendwelche Wärmeverschiebungen eintreten. Ein solcher Fall ist z. B. der des bekannten Daniell-Elementes, einer elektrischen Kette, bei der die gesamte chemische Energie der Auflösung von Zink in Schwefelsäure quantitativ in elektrische Energie übergeführt wird, ohne daß dabei Wärme abgegeben oder aufgenommen wird. Solche Fälle sind aber immerhin recht selten: bei den allermeisten chemischen Reaktionen spielen Wärmeverschiebungen eine große Rolle, sei es, daß, wie in der überwiegenden Mehrzahl der Reaktionen, Wärme nach außen abgegeben wird, exothermische Reaktionen, oder daß Wärme von außen her aufgenommen und in andere Energieformen übergeführt wird, endothermische Reaktionen. Auch solche Fälle lassen sich am klarsten durch Herstellung bestimmter elektrischer Elemente demonstrieren, da es sowohl elektrische Ketten gibt, bei denen außer Elektrizität auch Wärme abgegeben wird, wie solche, die unter Aufnahme von Wärme von außen her diese in elektrische Energie mit überführen, sich also während der Stromlieferung abkühlen. Im allgemeinen kann man sagen, daß der Anteil an Wärmeenergie, der aus der umgesetzten chemischen Energie neben anderen Energieformen entstehen kann, ein durchaus verschiedener ist, je nach der Art, wie die Reaktion geleitet wird. So kann man z. B. die oben erwähnte Energietransformation bei der Auflösung von Zink in Schwefelsäure

auch so lenken, daß überhaupt keine Arbeit geleistet wird, sondern daß die gesamte umgesetzte chemische Energie quantitativ in Wärme übergeführt wird. Je mehr an Wärme also relativ bei einer Reaktion entsteht, desto geringer ist der Anteil, der in Arbeit übergeführt werden kann. Nun ist aber die Wärme im Gegensatz zu allen anderen Energieformen eine zerstreute Energie, die nicht ohne Verluste wieder in gerichtete arbeitleistende Energie übergeführt werden kann. Während also ein Prozeß, bei dem auf Kosten chemischer Energie ausschließlich andere Energieformen, aber keine Wärme entstehen, durch geeignete Vorkehrungen in umgekehrter Richtung geleitet werden kann, reversibel ist, ist stets derjenige Anteil der chemischen Umsetzung, bei denen auf Kosten der chemischen Energie Wärme entsteht, nicht umkehrbar oder irreversibel. Daraus folgt der wichtige Satz, daß die maximale Arbeit einer Reaktion nur dann geleistet werden kann, wenn der Prozeß reversibel geleitet wird. Dies ist z. B. bei dem Daniell-Element in vollem Maße der Fall; während einerseits die Auflösung von Zink in Schwefelsäure bestimmte Mengen elektrischen Strom liefert, so kann man den Vorgang auch umkehren, indem man durch Zuführung genau derselben elektrischen Ströme eine Abscheidung des Zinks aus der Zinksulfatlösung erzwingen kann. Hier ist der Vorgang also völlig umkehrbar, und es wird seine maximale Arbeit erzeugt. In ähnlicher Weise kann man die maximale Arbeit aller chemischen Prozesse dann messen, wenn es gelingt, die Reaktion in die Form eines elektrischen Elementes zu bringen. Aber auch dann tritt, wie bereits oben erwähnt, nur selten der Fall ein, daß gar keine Wärmeverschiebungen auftreten. In den meisten Fällen kommt es auch dann neben der Leistung selbst der maximalen Arbeit noch zu Wärmeverschiebungen, sei es im positiven oder im negativen Sinne. Daraus ersieht man, daß bei den meisten chemischen Vorgängen auch in dem denkbar günstigsten Falle der Reversibilität trotzdem noch Wärmeverschiebungen mitspielen; und daraus folgt das ungemein wichtige Grundgesetz, daß die Abnahme der gesamten chemischen Energie auch theoretisch bei günstigster Leitung des Prozesses nicht mit der Leistung der maximalen Arbeit zahlenmäßig gleich zu sein braucht. Es kann sowohl, wie es

meistens der Fall ist, die Abnahme der Gesamtenergie größer sein als die geleistete maximale Arbeit, wie dies bei allen stets exothermen Reaktionen der Fall ist; es kann aber auch in selteneren Fällen auch von außen Wärme zugeführt und in Arbeit umgewandelt werden, so daß die Abnahme der Gesamtenergie kleiner ist als die geleistete maximale Arbeit. Diese Beziehungen werden durch den bekannten ersten Hauptsatz der Energielehre ausgedrückt, dessen Formel ist $U = A + Q$, wobei U die Abnahme der Gesamtenergie, A die geleistete Arbeit und Q die abgegebene Wärme darstellt. Aus dieser Gleichung folgen die beiden Endfälle: Ist $Q =$ Null, d. h. verläuft die Reaktion ohne Wärmeverschiebung, so wird die Abnahme der Gesamtenergie gleich der geleisteten Arbeit; und wird $A =$ Null, d. h. wird die Reaktion so geleitet, daß überhaupt keine Arbeit entsteht, so geht eben die gesamte Energieabnahme in Wärme über, es wird $U = Q$. Die unter solchen Umständen gewonnene Wärmemenge bezeichnet man als die Wärmetönung der Reaktion.

Eine andere, vielleicht noch einleuchtendere Darstellung der Sachlage ergibt sich, wenn man nach dem Vorgange von Helmholtz den Begriff der freien Energie einführt. Danach besteht die Gesamtenergie, die bei einer chemischen Reaktion umgesetzt wird, aus zwei verschiedenen Teilen. Der eine ist die sogenannte gebundene Energie Q, die der Wärmeinhalt des Systems ist oder auch bei ihrer Umsetzung ausschließlich in Wärme übergeführt werden kann. Ein anderer Teil der Energie F ist „frei“, d. h. dieser Anteil der Energie kann in jede beliebige andere Energieform, also in Arbeit oder auch in Wärme übergeführt werden. Es ist also bei Reversibilität der Vorgänge, wenn die maximale Arbeit geleistet wird, die Abnahme der freien Energie F des Systems gleich der maximalen Arbeit A. Und die obenerwähnte Gleichung würde dann die ebenso einfache Form $U = F + Q$ annehmen, wenn U wiederum die Abnahme der Gesamtenergie, F die Abnahme der freien Energie und Q die abgegebene Wärme bezeichnet. In den meisten Fällen ist Q, die abgegebene Wärme, positiv; es tritt dann also neben Arbeitsleistung noch Wärme auf; wird Q negativ, also Wärme aufgenommen, so wird die Verminderung der freien Energie größer als die der Gesamtenergie, d. h.

es wird noch Wärme von außen herangezogen, um Arbeit zu leisten.

Aus diesen theoretischen Vorbemerkungen geht nun das für das Problem aller Maschinen wichtige Ergebnis hervor, daß es für die Umsetzung chemischer Energie in andere Energieformen zwei Grenzwerte gibt. Der eine Grenzfall ist der, daß die gesamte umgesetzte Energie quantitativ in Wärme übergeführt wird. Will man also bei einer solchen Leitung des chemischen Umsetzungsprozesses in der Maschine Arbeit gewinnen, so muß erst wieder in einer zweiten Energietransformation die gewonnene Wärme in Arbeit übergeführt werden. Dies ist der Vorgang, wie er allen sogenannten calorischen Maschinen zugrunde liegt.

Der zweite Grenzfall ist aber der, daß der Vorgang so geleitet wird, daß die gesamte umgesetzte chemische Energie in andere Energieformen übergeführt wird, ohne daß überhaupt Wärme entsteht. Dieser Grenzfall ist, wie erwähnt, beim Daniell-Element praktisch zu verwirklichen, kommt aber sonst in der Natur nur selten vor. Die allermeisten chemischen Vorgänge sind nicht in dem Sinne zu leiten, daß überhaupt keine Wärme entsteht oder gebunden wird. Selbst wenn man es darauf anlegt, einen chemischen Vorgang so zu leiten, daß ein möglichst großer Anteil der Gesamtenergie in Arbeit übergeführt wird, so sind doch diese Vorgänge meist von dem Grade der völligen Reversibilität so weit entfernt, daß immer noch erhebliche Wärmemengen übrigbleiben und abgegeben werden. Der ungemein wichtige Unterschied aber bei der Arbeitsleistung solcher chemischen Maschinensysteme von den calorischen ist eben der, daß nicht etwa erst Arbeit sekundär aus Wärme entsteht, sondern direkt aus dem Vorgang der chemischen Umsetzung; und die Wärme sozusagen ein Nebenprodukt darstellt, die deswegen entsteht, weil eben die Abnahme der freien Energie des Systems geringer ist als die Abnahme der Gesamtenergie, weil also auch noch gebundene Energie, d. h. Wärme, umgesetzt wird. Wenn also solche chemodynamische Maschinen auch mit einem noch so schlechten Wirkungsgrad arbeiten sollten, daß etwa 95 % der Gesamtenergie in Wärme und nur 5 % in direkte Arbeitsleistung umgesetzt werden, so sind sie doch völlig und grundsätzlich verschieden von den ca-

lorischen Maschinen, bei denen, um es noch einmal zu wiederholen, erst einmal die Gesamtenergie der chemischen Reaktion in Wärme, und dann in einem zweiten Transformationsprozeß in Arbeit übergeführt wird.

Dieser Unterschied ist für die Auffassung der Maschine deswegen von so fundamentaler Bedeutung, weil der theoretische Wirkungsgrad einer chemodynamischen Maschine nur von dem erzielbaren Verhältnis zwischen maximaler Arbeit und Abnahme der Gesamtenergie abhängt, also theoretisch alle Werte zwischen 0 und $100^0/_0$ annehmen kann. Ist aber erst einmal die Umsetzung eines Teiles der Gesamtenergie, nämlich der freien Energie in eine andere arbeitsfähige Energieform, z. B. in elektrischen Strom, erfolgt, so treten bei der weiteren Umsetzung dieser primären Transformationsenergie in die gewünschte Arbeit keine anderen Verluste mehr in den Weg, als sie durch rein praktische Unvollkommenheiten unserer Maschinen bedingt sind, insbesondere also durch Reibung, Stromverlust usw. Ein weiterer theoretisch notwendiger Verlust bei der Umwandlung der primär transformierten Energie in etwa gewünschte andere Energieformen, also z. B. mechanische Arbeit, tritt nicht auf.

Völlig anders liegt die Sache, sobald man bei der calorischen Maschine gezwungen ist, primär entstandene Wärme ihrerseits in mechanische Arbeit überzuführen. Hier treten weitere theoretisch unumgängliche Verluste ein, die darauf beruhen, daß eben, wie bereits erwähnt, die Wärme im Gegensatz zu allen übrigen Energieformen eine zerstreute Energie ist: die überhaupt nur unter Absinken ihrer Intensität (Temperatur) und auch dann nicht ohne erhebliche Verluste wieder in Arbeit umgewandelt werden kann. Diesen theoretisch notwendigen Umwandlungsverlust der Überführung von Wärme in Arbeit drückt bekanntlich der zweite Hauptsatz der Thermodynamik aus in der Formel

$$A = Q \frac{T_1 - T_2}{T_1},$$

wobei A die geleistete Arbeit, Q die Wärmemenge und T_1 und T_2 die absoluten Temperaturen darstellen, zwischen denen der Vorgang sich vollzieht. T_1 ist die Temperatur der zum Zwecke

der Umwandlung verwendeten Wärmemenge, T_2 die Endtemperatur, bei der der arbeitende Vorgang abgelaufen ist: $T_1 - T_2$ also die Temperaturspannung, die überhaupt für die Umsetzung der Wärme zur Verfügung steht; bei der Dampfmaschine also etwa die Temperaturspannung zwischen der Temperatur des erhitzten Dampfes und der des Kondenswassers. Infolgedessen ist T_1 stets größer als T_2, und damit der Bruch, mit dem Q multipliziert werden muß, stets ein echter Bruch, d. h. A ist stets kleiner als Q: es tritt ein theoretisch unvermeidbarer Energieverlust ein. Die Formel des zweiten Hauptsatzes gibt dann auch gleichzeitig einen Maßstab für die relative Größe dieses Verlustes: es ist ersichtlich, daß dieser Verlust um so kleiner werden muß, je größer die Spannung zwischen T_2 und T_1 wird, da sich dann der Bruch immer mehr der 1 nähert. Die Umwandlungsmöglichkeit von Wärme in Arbeit ist also um so größer, je höher die Temperatur der Wärme einerseits, je tiefer die Temperatur des sich vollziehenden arbeitenden Vorganges andererseits ist. So berechnet sich z. B. bei einer Niederdruckdampfmaschine mit einer Temperaturspannung von (absolut) 373 bis 303 der theoretische Wirkungsgrad auf 18 %. Bei einer calorischen Maschine sind also sehr große prozentuale Wirkungsgrade nur dann denkbar, wenn es sich um sehr hohe Temperaturen der umzuwandelnden Wärme handelt; im Gegensatz zu der chemodynamischen Maschine, bei der, wie erwähnt, theoretisch alle Wirkungsgrade von 0 bis 100 % möglich sind.

Neben vielen anderen Gründen, auf die einzugehen nicht im Plane dieser speziellen Arbeit liegt, ist es vor allem die außerordentliche Unwahrscheinlichkeit der Annahme, es könnten im menschlichen Körper derartig große Temperaturspannungen vorkommen, wie sie zur Erklärung des relativ hohen Wirkungsgrades der Muskelmaschine (40 % und darüber) nötig wären, welche die Hauptstütze für die sich immer mehr befestigende Annahme ist, daß das Maschinensystem Mensch eben nicht aus calorischen, sondern aus chemodynamischen Maschinen besteht.

Diese Änderung in der Stellung des Grundproblems ist aber nicht nur von allgemeinem Interesse für die Auffassung des Menschen als Kraftmaschine, sondern hat noch eine be-

sondere Bedeutung, gerade für das sehr wichtige Teilproblem, das in dieser Arbeit behandelt werden soll, ob nämlich die Calorie als der Maßstab der mit den Nährstoffen zugeführten umsetzbaren Gesamtenergie auch dann noch zulässig bleibt, wenn wir die Arbeitsleistungen betrachten, die eben auf Kosten der zugeführten Nährstoffe hervorgebracht werden können.

Denn die Calorie, zuerst nur als Maßstab für die Wärmeumsetzungen überhaupt herangezogen, blieb der Maßstab auch dann noch, als die moderne Stoffwechselphysiologie ihre Probleme weiter steckte, als sie nicht nur den Zusammenhang zwischen der Wärmebildung im Organismus mit der größtmöglichen Wärmebildung beim Umsatz der zugeführten Nährstoffe untersuchte, sondern auch, als sie anfing, den Zusammenhang zwischen der Zufuhr verschiedener Nährstoffe und den Arbeitsleistungen des Körpers zu prüfen.

Wollte man aber auf diesem Wege erfolgreich fortschreiten, so waren zunächst einige wesentliche Teilprobleme zu lösen, die experimentell und theoretisch große Schwierigkeiten gemacht haben. Will man nämlich zahlenmäßige Beziehungen zwischen den meßbaren Arbeitsleistungen einerseits und der verfügbaren Energie der dargebotenen Nährstoffe als Quelle dieser Arbeitsleistungen andererseits feststellen, so muß man vorher wissen, daß tatsächlich alle wirklichen Nährstoffe befähigt sind, nach dem Maße der in ihnen enthaltenen verfügbaren Energie zu den Arbeitsleistungen beizutragen. Es darf da nicht Nährstoffe erster Klasse geben, die bei ihrer Umsetzung im Körper auch zu Arbeitsleistungen befähigt sind, und Nährstoffe zweiter Klasse, die zwar auch Energie dem Körper zuführen, aber nur solche Energie, die nicht zur Leistung mechanischer oder osmotischer Arbeit, sondern etwa nur zur Wärmeproduktion dienen kann.

Diese Annahme von Nährstoffen verschiedener energetischer Qualität war aber die ältere; es hat vieler Mühe bedurft, um diese Ansicht zu widerlegen und nachzuweisen, daß sämtliche dargebotenen energiehaltigen Nährstoffe auch zur Abgabe arbeitsfähiger freier Energie befähigt sind.

Da die historische Entwicklung dieser Lehren von größter Bedeutung für unsere Frage ist, sei mit wenigen Worten darauf eingegangen. Solange überhaupt die Vertretungsver-

hältnisse der Energien unbekannt waren, rechnete man natürlich nur mit der Wärmeerzeugung des Körpers. Lavoisier konnte nicht weiter gehen, als anzunehmen, daß die zugeführten Stoffe im Körper verbrennen und dabei dieselben Wärmemengen liefern wie außerhalb.

Als man dann später auch die Arbeitsleistungen des Körpers mit in den Kreis der Untersuchungen zog, war man zunächst der Meinung, es müßten bestimmte Gruppen von Nährstoffen sein, die allein zur Leistung von Muskelarbeit befähigt wären, und damit begann die unendliche Reihe von Bemühungen, die „Quelle der Muskelkraft" zu suchen. Liebig stellte zuerst das Eiweiß in den Vordergrund: weil der Muskel aus Eiweiß besteht, sollte dies auch allein bei seinen chemischen Umsetzungen die Kraft, wie wir heute sagen würden, die Energie für den Muskel liefern.

Diese Ansicht wurde widerlegt: Fick und Wislicenus durch ihre berühmte Faulhornbesteigung (1865) und viele andere konnten nachweisen, daß bei genügendem Umsatz stickstofffreier Nährstoffe der Eiweißumsatz auch bei starker Muskelarbeit so gut wie gar nicht erhöht wird, und somit auch nicht annähernd zur Leistung der Arbeit ausgereicht haben kann. Damit traten also die stickstofffreien Nährstoffe in den Vordergrund. Wieder in dem Bemühen, einen bestimmten Stoff verantwortlich zu machen, wollte man nun dem Zucker allein die Rolle als alleiniger Energielieferer für die Muskelarbeit zuweisen (Seegen[1]), Chauveau[2]) u. a.).

Die anderen im Körper umgesetzten Nährstoffe sollten demnach für die Muskelarbeit untauglich sein und ganz allein Wärme bei ihrer Verbrennung liefern. Besonders nahm man dies für eine Reihe sozusagen sekundärer Nährstoffe an, die zweifellos auch im Körper oxydiert werden, wie z. B. Alkohol, Milchsäure usw. Alle Stoffe, die nicht als Quelle der Muskelkraft dienen konnten, sollten also nur zur Deckung eines anderen physiologischen Zweckes, nämlich des Wärmebedürfnisses des Tieres, herangezogen werden können.

Diese ganze Art der Anschauung mußte fallen, als man erkannte, daß es einen eigenen Wärmestoffwechsel in dem

[1]) Seegen, Zuckerbildung im Tierkörper, Berlin 1890.
[2]) Chauveau, Le travail musculaire, Paris 1891.

Sinne überhaupt nicht gibt, daß etwa bei eintretendem größeren Wärmebedürfnis, also niederer Außentemperatur, irgendwelche rein chemischen Verbrennungsprozesse in Gang gebracht würden, die nur Wärme und direkt Wärme liefern. Es gibt zwar Prozesse im Körper, die direkt Wärme liefern, nämlich die chemischen und physikalisch-chemischen mit dem Ruhestoffwechsel verbundenen Umsetzungsprozesse in den Zellen; aber diese Vorgänge können aus dem einfachen Grunde niemals zur Deckung eines stärker auftretenden Wärmebedürfnisses beitragen, weil ihr Umfang eben durch die physiologische Tätigkeit der Einzelzellen bedingt und keiner irgendwie nennenswerten Steigerung durch äußere oder nervöse Einflüsse fähig ist. Will der Körper zur Deckung eines erhöhten Wärmebedürfnisses mehr Wärme produzieren, so gibt es nur einen einzigen Weg, nämlich die gewollte oder auch halb gegen den Willen einsetzende Muskelarbeit (Zittern). Dies ist durch viele Arbeiten, zuerst wohl von Zuntz[1]), festgestellt.

Wenn aber der gesamte Wärmestoffwechsel etwas durchaus Sekundäres ist, immer nur auf dem Wege über die Muskelarbeit gesteigert werden kann, so wird es dadurch schon außerordentlich unwahrscheinlich, daß es überhaupt Nährstoffe gibt, die zwar direkt verbrennen und Wärme liefern, aber nicht zur Muskelarbeit dienen können.

In der Tat ist diese Frage heute völlig klargestellt: alle Stoffe, die überhaupt im Körper bei ihrer Oxydation nutzbar gemacht werden können, sind nicht nur imstande, Wärme zu liefern, sondern auch Energie für die Muskelarbeit. Der Muskel zieht sowohl Eiweiß (Pflüger), als auch Fette und Kohlenhydrate heran, ferner aber auch Milchsäure (Zuntz), Alkohol (Durig) und eine Reihe anderer Stoffe. Es ist auch durch die Arbeiten von Zuntz[2]) und insbesondere in ausführlichster Weise von Rubner[3]) festgestellt und z. B. von Atwater und Benedict bestätigt, daß die Wärmemengen, die so aus den Nährstoffen auf dem Umwege über Muskelarbeit entstehen, genau den Wärmemengen in Calorien entsprechen, welche die von

---

[1]) Röhrig und Zuntz, Arch. f. d. ges. Physiol. **4**, 57, 1871.
[2]) Zuntz, Arch. f. d. ges. Physiol. **17**, und **32**, 173; ferner **83**, 357.
[3]) Rubner, Zeitschr. f. Biol. **19**, 312, 1883 usw.

diesen Nährstoffen wirklich resorbierten Mengen bei ihrer ebenso weit gehenden Verbrennung außerhalb des Körpers leisten würden. Dieses Gesetz der Isodynamie der Nährstoffe gilt ebenso, wenn nicht zugeführte Nährstoffe, sondern Körperstoffe, also Körpereiweiß oder Glykogen usw. oxydiert werden, wie dies z. B. im Hunger und auch dann geschieht, wenn mehr Energie verbraucht als zugeführt wird.

Dieser für die ganze Auffassung der Energieumsetzungen im Organismus grundlegende Nachweis, daß erstens alle Stoffe auf dem Umwege über Muskelarbeit Wärme liefern können, und daß der Zahlenwert dieser Transformation völlig dem Caloriengehalt der umgesetzten Stoffe entspricht, läßt nun noch eine Frage offen, deren Beantwortung gerade für unser Thema von großer Wichtigkeit ist. Wenn nämlich auch festgestellt ist, daß die Wärmeproduktion der Nährstoffe auch bei dem Umweg über Arbeit völlig ihrem Calorienwerte entspricht, so könnte doch noch die geleistete Zwischenarbeit selbst bei den einzelnen Gruppen der Nährstoffe verschieden sein. Es könnte also ein chemisches Energieäquivalent in einem Eiweißkörper ein anderes Arbeitsäquivalent im Muskel und trotzdem nach weiterer Transformation wieder dasselbe Wärmeäquivalent liefern, wie ein Äquivalent Fett oder Zucker. Es würde sich dies darin ausdrücken können, daß bei Forderung einer ganz bestimmten Arbeit von einer Nährstoffgruppe mehr Energieäquivalente verlangt werden, als von einer anderen, und dann würde Wärme im Überschuß entstehen.

Diese Frage, ob nämlich die Nährstoffe im Verhältnis zu ihrem Calorienwert verschiedene Arbeitsmengen liefern, ist mit außerordentlichem Eifer geprüft worden, und es haben sich in der Tat Hinweise darauf ergeben, daß gewisse Nährstoffe, und zwar ganz besonders die Eiweißkörper unter bestimmten Bedingungen, mehr Wärme liefern als ihrem Arbeitswerte entspricht. (Spezifisch-dynamische Wirkung, Rubner.) Dagegen sind die Ansichten Chauveaus, daß die Fette quantitativ weniger geeignet zur Muskelarbeit wären, als die Kohlenhydrate, als widerlegt zu betrachten. Leider ist aber auch die Deutung der experimentell sichergestellten Umsatzsteigerung bei der Fütterung von Eiweißkörpern eine außerordentlich schwierige.

Sehen wir selbst an dieser Stelle ganz davon ab, daß ein Teil dieser Umsatzsteigerung ganz sekundären Faktoren, nämlich eine Vergrößerung der geleisteten Arbeit, z. B. der Steigerung der Verdauungsarbeit, einer Reizwirkung auf die Zellen usw. zuzuschreiben ist, so bleiben doch rein theoretisch zur Erklärung jeder etwa aufgefundenen Verschiedenheit des calorischen und rein energetischen Wertes verschiedener Nährstoffe für dasselbe Quantum geleisteter Arbeit zwei Möglichkeiten, die einer experimentellen Entscheidung bisher kaum zugänglich sind. Die eine Möglichkeit ist die, daß die Nährstoffe, schon bevor sie überhaupt zur Muskelarbeit herangezogen werden, an einer ganz anderen Stelle, also vielleicht in der Leber, chemischen Vorbereitungen unterzogen werden, bei denen sie einen Teil ihrer Energie einbüßen. Von diesem Gesichtspunkt ging z. B. Chauveau aus, nachdem er bewiesen zu haben glaubte, daß die Fette rund $25\,^0/_0$ weniger Arbeitsenergie liefern als die Kohlenhydrate bei gleicher calorischer Leistung; er schloß eben daraus, daß die Fette zunächst in der Leber unter Energieverlust in Kohlenhydrate umgewandelt werden müssen. Während aber für die Fette dies sicher nicht richtig ist, kann man mit großer Wahrscheinlichkeit eine solche Annahme für die Umsetzung der Proteine wirklich annehmen. Diese geben wohl sicher einen Teil ihrer Energie außerhalb des Muskels in vorbereitenden Umsetzungen ab, wobei Wärme frei wird, sie gelangen also mit verminderter freier Energie zur definitiven Umwandlung zwecks Arbeitsleistung.

Die zweite theoretische Möglichkeit aber ist die, daß die Nährstoffe an sich bei gleicher calorischer Leistung in der Muskelzelle eine verschiedene Arbeit leisten.

Diese Möglichkeit, daß ein calorisches Äquivalent verschiedener Nährstoffe bei seiner Oxydation in der Muskelzelle verschiedene Mengen von Arbeit leistet, läßt sich sowohl vom Standpunkt der calorischen Maschine, wie von dem der chemodynamischen Maschine aus entwickeln. Vom Standpunkt der calorischen Maschine aus wäre freilich eine Verschiedenheit der energetischen Leistungen bei gleicher Wärmeproduktion dann unverständlich, wenn wir annehmen, daß die Oxydation der verschiedenen Nährstoffe sich bei gleicher Temperatur

vollzieht; denn für die Umwandlung einmal gebildeter Wärme in Arbeit ist es gleichgültig, aus welcher Quelle diese Wärme stammt, ob also im konkreten Falle Eiweißkörper oder Fette oder Kohlenhydrate oxydiert werden. Die daraus zu gewinnende Arbeit hängt vielmehr von der einmal gebildeten Wärmemenge, also von den umgesetzten Calorien, und außerdem nach dem zweiten Hauptsatze von der Temperaturspannung ab. Nehmen wir also gleiche Temperaturspannungen beim Umsatz der verschiedenen Nährstoffe an, so ist die so gebildete Wärme ohne Rücksicht auf ihre Herkunft eine gleichförmig fließende Energiequelle, und in diesem Falle wäre das Rubnersche Isodynamiegesetz für die Arbeitsleistungen aller Nährstoffe ebenso ohne weiteres gültig, wie es für die Wärmeproduktion ist. Es liegt nun aber kein zwingender Grund vor, für die Oxydation der verschiedenen Nährstoffgruppen in der calorischen Maschine gleiche Temperaturen anzunehmen. Nehmen wir aber für die Oxydationstemperatur und die Temperatur des Arbeit leistenden Vorganges verschiedene Spannungen an, so kann auch der thermische Wirkungsgrad nach dem zweiten Hauptsatze in gar nicht vorauszusehender Weise wechseln. Dieselbe Calorienmenge kann in dem Falle einer höheren Temperaturspannung eine erheblich größere Arbeit leisten als bei niedrigerer: es könnten also etwa aufgefundene Differenzen im energetischen Arbeitswert verschiedener Nährstoffe auch unter der Annahme verschiedener Verbrennungstemperaturen ihre Erklärung finden. Aber diese Annahme führt in ihren weiteren Konsequenzen zu recht bedenklichen Folgerungen. Denn sobald man einmal daran geht, für die energetischen Leistungen calorische Prozesse mit verschiedenen Temperaturspannungen heranzuziehen, so verliert die Calorie überhaupt jede Bedeutung als energetischer Maßstab. Die Wärmemenge, d. h. eben die Anzahl der Calorien, die gebildet werden können, ist dann immer für alle energetischen Umwandlungen nur der eine Faktor, neben den als ebenso gleichberechtigter und eventuell völlig wechselnder Faktor die Temperaturspannung tritt. Die calorische Auffassung drängt also in ein recht unerfreuliches Dilemma hinein: entweder neigen wir uns zu der Annahme, daß die Temperaturspannungen für die Ausnutzung der Wärme stets die gleichen sind; dann gibt

es keine Möglichkeit, auftretende Verschiedenheiten im energetischen Wert der Nährstoffe zu erklären; oder aber wir greifen zu der Annahme verschiedener Temperaturspannungen, dann verliert die altgewohnte Calorienrechnung jede Bedeutung für die energetische Betrachtung.

Ganz anders und theoretisch sicherer gestaltet sich die Überlegung, wenn wir den Organismus nicht als calorische, sondern als chemodynamische Maschine ansehen, wenn wir also eine direkte Transformation von chemischer Energie in mechanische Arbeit annehmen. Bei dieser Betrachtungsweise ist die Möglichkeit verschiedenen energetischen Wertes einzelner Nährstoffe bei gleichem calorischen Wert ohne weiteres gegeben, denn es hängt ja bei solchen direkten Transformationen die Arbeitsleistung nicht von der Umwandlung der Gesamtenergie über die in Calorien ausdrückbare Wärme ab, sondern ausschließlich von dem Umsatz der freien Energie; und es ist, rein theoretisch genommen, kein Grund vorhanden, anzunehmen, daß die Umwandlung der freien Energie bei der Oxydation der Kohlenhydrate dieselbe sein müßte, wie bei der der Fette, wenn beide auch in calorisch gleichem Maße umgesetzt werden. Bei der Annahme des Körpers als einer chemodynamischen Maschine hängen also, rein a priori betrachtet, die Isodynamiewerte der oxydierten Stoffe für die Arbeitsleistung des Körpers nicht mit dem calorischen Werte zusammen und könnten vollkommen andere sein. Daraus ließe sich also auf Grund des verschiedenen „Energiepotentials" eine tiefgreifende Verschiedenheit der einzelnen Gruppen der Nährstoffe für die Arbeitsleistung des Körpers konstruieren [wie dies übrigens mehrfach ohne viel Kritik geschehen ist[1])]; vor allem aber würde sich daraus die höchst bedauerliche Tatsache ergeben, daß die ganze unermeßlich große Arbeit, die in der Stoffwechselforschung aufgewendet worden ist und die seit Lavoisiers Zeiten ausschließlich mit Calorien gerechnet hat, wenigstens insofern sich auf schwankendem Boden befände, als sie sich nicht nur mit der Wärmeproduktion, sondern auch mit den Arbeitsleistungen des Körpers befaßt hat; für diese

[1]) Siehe z. B. Bircher-Benner, Grundzüge der Ernährungstherapie usw., Berlin 1909, 3. Aufl.

wäre also die althergebrachte Calorie durchaus kein sicherer Maßstab mehr.

In dem Moment, wo wir von der Auffassung des Organismus als einer calorischen Maschine abgehen und die entstehende kinetische Energie aus der Umsetzung der chemischen Energie direkt ohne den Umweg über die Wärmetransformation ableiten, erhält die Calorienrechnung nur denselben Wert wie das alte Berthelotsche Gesetz, das bekanntlich ausdrückte, daß die maximale Arbeitsleistung einer Reaktion abhängig ist von dem Maß der maximalen Wärmeproduktion derselben Reaktion. Wir wissen nun aber mit absoluter Sicherheit, daß die maximale Wärmeleistung einer Reaktion, d. h. die Umsetzung der Gesamtenergie bei dieser Reaktion kein theoretisches Maß für die Umsetzung der freien Energie, d. h. die maximale Arbeitsleistung dieser Reaktion ist, mit anderen Worten, daß das Berthelotsche Prinzip theoretisch falsch und nur ein in vielen Fällen zulässiges praktisch gültiges Hilfsmittel ist.

Es unterliegt in der Tat gar keinem Zweifel, daß unsere gesamte Calorienrechnung für die Arbeitsleistungen theoretisch falsch ist.

Indessen ist die Sache nicht so schlimm, wie es auf den ersten Blick den Anschein hat. Das Berthelotsche Prinzip ist zwar, wie erwähnt, kein exaktes Naturgesetz, aber es gilt mit sehr großer Annäherung bei allen Prozessen, die bei relativ niedriger Temperatur praktisch restlos verlaufen, d. h. kein meßbares Gleichgewicht bilden, und exotherm vor sich gehen. Um solche Prozesse handelt es sich aber ganz vorwiegend bei allen physiologischen Oxydationsreaktionen. Es sind dies wohl sämtlich ohne jähe Temperatursteigerungen einhergehende langsame Oxydationsprozesse, die exotherm ohne einen meßbaren Gleichgewichtszustand verlaufen, mag es sich um die langsame Oxydation der Fette und Kohlenhydrate oder der stickstofffrei gemachten Eiweißbruchstücke handeln. Bei allen solchen Prozessen ist der Unterschied zwischen dem Verlust an Gesamtenergie und dem Verlust an freier Energie des chemisch umgewandelten Systems so geringfügig, daß beide fast zusammenfallen und das Berthelotsche Prinzip praktisch gültig ist. Wir werden also nur einen außerordentlich kleinen Fehler

machen, wenn wir die Abnahme der freien Energie bei diesen Prozessen gleich der der Gesamtenergie oder gleich der Wärmetönung setzen, d. h. eben wenn wir in Calorien rechnen. Bei einer sehr ähnlichen Reaktion, nämlich der totalen Oxydation von Kohlenstoff zu Kohlendioxyd bei niedriger Temperatur, hat man berechnen können, daß die maximale Arbeit, also die Abnahme der freien Energie, mehr als 95 % der Wärmetönung dieser Reaktion, d. h. der Abnahme der gesamten Energie entspricht[1]). Auch für die wichtigsten physiologischen Oxydationsvorgänge gilt nach den Berechnungen von Báron und Polányi[2]) ungefähr das gleiche. Diese Forscher haben die maximale Arbeit, die bei den wichtigsten chemischen Vorgängen im Organismus stattfinden kann, auf dem neu erschlossenen Wege berechnet, wie dies auf Grund des Nernstschen Wärmetheorems in einer Annäherung möglich ist, und haben dabei tatsächlich gefunden, daß die berechnete Abnahme der freien Energie bei der physiologischen Oxydation des Zuckers und des Fettes innerhalb der Fehlergrenze völlig der Abnahme der gesamten Energie entspricht.

Wir können also mit gutem Gewissen auch weiterhin den Umsatz der Energie des Menschen in Form unserer altgewohnten Calorienrechnung messen und können sicher sein, daß die theoretischen Fehler, die wir dabei begehen, nicht so groß sind, wie die unvermeidlichen Versuchs- und Beobachtungsfehler, die in der Mangelhaftigkeit unserer Methoden liegen.

Der theoretische Fehler, den wir also in dem Falle machen, daß wir unsere Calorienrechnung als Maßstab weiterführen, ist um so weniger bedenklich, als es sich hier in der Hauptsache um rein praktische Dinge handelt. Wir brauchen nichts als einen, man möchte beinahe sagen konventionellen Maßstab, um den Wert der zugeführten Nährstoffe in annähernden Grenzen zu schätzen. Unter dem Begriffe des Nährwertes müssen wir ja nach den Ergebnissen der neueren Stoffwechselforschungen leider noch immer zwei gänzlich verschiedene Dinge zusammenfassen. Einerseits haben die zuge-

---

[1]) Nach Nernst, Theoretische Chemie, 7. Aufl., **1913**, 731.

[2]) Diese Zeitschr. **53**, 1, 1913.

führten chemischen Substanzen der Nahrungsmittel die Bedeutung, die Aufrechterhaltung der Zellsubstanz in Qualität und Quantität zu bewirken, die Verluste zu decken, die sich im Lebensprozeß herausstellen, und neue lebende Substanz zum Ersatz dafür zu bilden. Für diese im wesentlichen chemischen Prozesse kommt neben der Menge auch die Qualität der zugeführten Stoffe als ausschlaggebend in Betracht, und insbesondere sind es hier die Eiweißkörper, die durch keine Stoffe anderer Art zu ersetzen sind. Die Qualität der Nährstoffe kommt nun natürlich auch für die energiespendenden Substanzen insoweit in Betracht, als sie eben die Eigenschaft von Nährstoffen überhaupt haben müssen, also die Qualität der Oxydierbarkeit im Stoffwechsel zwecks Ausnutzung ihrer Energie; sieht man aber von dieser Grundeigenschaft ab, so tritt die Qualität ganz zurück hinter der rein quantitativen Bedeutung. In diesem Sinne sind die Nährstoffe nichts anderes als Zuträger von Energie und erweisen ihren Wert nur in dem Maße, wie der lebende Körper aus ihnen Energie entnehmen kann. Und die Größe dieses Wertes ist es nun, die wir bisher gewohnheitsmäßig an den Calorien gemessen haben, indem wir den Verbrennungswert der Stoffe als Maßstab gewählt haben, auf Grund der erworbenen Kenntnis, daß die Oxydation im Körper tatsächlich dieselbe Wärmesummen liefert wie außerhalb. Natürlich wäre es auf Grund unserer neugewonnenen theoretischen Vorstellung viel richtiger, nicht den Calorienwert, sondern den Wert der maximalen Arbeit als Maßstab für den Nährwert einer Substanz zu nehmen, der maximalen Arbeit, die die entsprechende Substanz bei der physiologischen Transformation ihrer chemischen Energie leisten kann. Aber bisher besteht eben keine Möglichkeit, das theoretische Postulat in die Praxis umzusetzen. Wir haben zwar oben erwähnt, daß man neuerdings auf Grund des Nernstschen Wärmetheorems festgestellt hat, daß die wichtigsten Nährstoffe, die Fette und Kohlenhydrate, bei ihrer Umwandlung eine maximale Arbeit leisten, die sehr nahe an die Umsetzung der Gesamtenergie herankommt; aber auch das kann uns nichts nützen, da wir bisher nicht die geringste Vorstellung davon haben, wie weit sich die chemischen Energietransformationen im Körper von dem Grade der völligen Reversibilität und damit der maximalen Arbeit entfernen;

daß sie nicht rein reversibel verlaufen, sondern vielmehr unter allen Umständen bei ihnen erhebliche Bruchteile irreversibler Prozesse unterlaufen, die zu einer primären Wärmebildung führen, ist von vornherein sicher; und im übrigen kann man wohl als sicher voraussetzen, daß sowohl die Umsetzungen der einzelnen chemischen Substanzen an denselben Orten, wie auch derselben chemischen Substanzen an verschiedenen Orten des Körpers verschiedene Bruchteile irreversibler Prozesse aufweisen werden. Aus allen diesen Gründen hat es vorläufig noch gar keinen realen Zweck, das theoretisch richtigere Maß der maximalen Arbeit für den Nährwert einzusetzen. Wir können eben bisher immer nur das Endresultat messen, nämlich das Auftreten von entweder nur Wärme, insofern dem ganzen System Mensch keine neue potentielle Energie zugeführt wird, vielmehr die gesamte geleistete Arbeit durch Reibung in Wärme übergeht; oder das Auftreten von großen Quantitäten Wärme, neben Erzeugung einer gewissen Energie der Lage, wie dies z. B. bei Steigversuchen der Fall ist.

Praktisch wichtig könnte der theoretische Fehler in unserer Calorienrechnung nur dann werden, wenn die unter den Bedingungen des Körpers geleistete Arbeit bei der Energietransformation der verschiedenen Nährstoffe zahlenmäßig eine so verschiedene wäre, daß sich hier grobe Abweichungen zwischen dem rein calorischen, also für die Wärmebildung des Organismus geltenden, und dem wirklichen energetischen Wert für die Arbeitsgewinnung zeigen würden.

Wir haben bereits auf die theoretische Bedeutung dieser Möglichkeit für eine Entscheidung zwischen der calorischen und der chemodynamischen Theorie hingewiesen: es ging aus der Erörterung hervor, daß der Fehler in der Calorienrechnung jedenfalls vorhanden sein muß, wenn überhaupt zwischen Wärmewert und Arbeitswert von Nährstoffen Differenzen bestehen, ganz gleichgültig, von welcher theoretischen Basis sich die Differenz herleitet.

Diese wichtigen Dinge seien nun etwas ausführlicher dargestellt.

Prüfen wir zunächst die Verhältnisse der wichtigsten stickstofffreien Nährsubstanzen, so ist zunächst die Behauptung von

Chauveau zu erwähnen, daß das Fett mindestens 25% weniger nutzbare Muskelarbeit leisten könnte als die Kohlenhydrate. Chauveau hielt diesen Beweis für geführt und glaubte daraus schließen zu müssen, daß die Fette als solche überhaupt nicht zur Muskelarbelt dienlich sein könnten, sondern vielmehr stets vorher, und zwar in der Leber, in Zucker übergeführt werden müssen, wobei sie eben einen Teil ihrer Energie in irreversiblen Oxydationsvorgängen verlieren würden; dieser Anteil könnte dann nur noch als Wärme auftreten und so für die Muskelarbeit nicht mehr in Betracht kommen. Diese Ansicht Chauveaus, der in neuerer Zeit wiederum noch von Porges[1]) auf Grund komplizierter und undurchsichtiger Versuchsbedingungen beigepflichtet worden ist, ist aber durch die Untersuchungen von Zuntz und seinen Schülern sowie von Rubner und von Atwater als widerlegt zu betrachten. Es zeigen sich zwar geringe Differenzen zwischen Kohlenhydraten und Fetten bei gleicher Muskelarbeit in dem Wirkungsgrad bei Steigarbeit resp. im Calorimeter, und zwar in den meisten Versuchen in sehr geringem Maße zugunsten der Kohlenhydrate, nämlich etwa 1 bis 2%, im Höchstfalle 5%; man findet aber auch Versuche mit dem entgegengesetzten Resultat, daß nämlich die Fette um ein Geringes ökonomischer arbeiten als die Kohlenhydrate[2]). Mit diesen geringen Differenzen ist naturgemäß gar nichts anzufangen, um so weniger als wir über den Vorgang des Abbaues der Fette noch so gut wie nichts wissen und uns infolgedessen auch nicht das geringste Bild davon machen können, in welcher Art und Weise die Fette zur Muskelarbeit herangezogen werden. Irgendein Beweis dafür, daß die Fette vor ihrem Eintritt in den Muskel irgendwo anders unter Wärmeabgabe verändert werden, ist ebensowenig zu führen wie der, daß die Fette etwa im Muskel eine andere maximale Arbeit als die Zucker leisten.

Etwas anders liegt die Sache bei den Eiweißkörpern. Wie Rubner[3]) zeigen konnte, geben die Eiweißkörper in der Tat 15 bis 20% weniger für die Arbeitsleistungen des ruhenden Körpers her als die calorisch gleichen Mengen von Fetten

---

[1]) Porges, diese Zeitschr. 27, 131, 1910.

[2]) N. Zuntz, Handbuch d. Bioch. 4, 1, S. 857, wo die Literatur.

[3]) Rubner, Gesetze des Energieverbrauches, Wien 1902.

und Kohlenhydraten. Dieser Energieverlust, den Rubner als die „spezifisch-dynamische Wirkung“ bezeichnet hat, ist bei Fütterung von Eiweißkörpern am prägnantesten unter folgenden Versuchsbedingungen erkennbar: Wenn das Versuchstier in relativ warmer Umgebung (etwa 30^0) gehalten wird, so befindet es sich in dem Zustande der reinen physikalischen Wärmeregulation, d. h. es ist nicht genötigt, Muskelarbeit eigens zu dem Zwecke zu leisten, um die zur Aufrechterhaltung seiner Körpertemperatur notwendige Wärmemenge zu produzieren. Es gehen dann also im Inneren des Körpers nur diejenigen Arbeitsleistungen vor sich, die zur Aufrechterhaltung seiner Ökonomie nötig sind, also die Herzbewegung, Atembewegung usw., und es muß nur zur Deckung dieser Anforderung Energie umgesetzt werden. Setzt man nun unter diesen Umständen den energetischen Wert von Fetten und Kohlenhydraten = 100, so leisten calorisch gleiche Eiweißmengen nur etwa 85, d. h. unter diesen Bedingungen wird bei Fütterung mit Eiweiß ein etwa 15 bis 20$^0/_0$ höherer Gesamtumsatz beobachtet als bei Fütterung mit Fetten. Es entsteht also eine überschüssige Wärmemenge, die bei diesen Bedingungen nicht gebraucht wird, also in reinem Überschuß vorhanden ist. Dann ist also die spezifisch-dynamische Wirkung, d. h. die Differenz zwischen dem calorischen und dem energetischen Wert ohne weiteres erkennbar. Wenn sich aber das Tier in einer kälteren Umgebung befindet, so tritt die sogenannte chemische Wärmeregulation ein, d. h. das Tier muß Prozesse der Muskelarbeit eigens zu dem Zwecke einleiten, um seinen Wärmebedarf zu befriedigen. Wird es nun unter solchen Bedingungen mit Eiweiß gefüttert, so kann es die dadurch im Überschuß produzierte Wärme dazu benutzen, um einen Teil seines Wärmebedürfnisses zu decken: es werden also durch den calorischen Überschuß der Eiweißumsetzung andere Prozesse der Muskelarbeit entbehrlich gemacht, die bei Fütterung mit anderen Nährstoffen ausschließlich zum Zwecke der Deckung des Wärmebedürfnisses in Gang gebracht werden müßten. Unter diesen Bedingungen ist also die überschüssige Wärme der Eiweißkörper kein überflüssiger, wenn auch unvermeidlicher Abfall der notwendigen Arbeitsvorgänge, sondern wird vom Tiere gebraucht. Infolgedessen wird unter

diesen Umständen, also bei niedriger Außentemperatur, der Gesamtumsatz bei Fütterung mit Eiweiß anstatt Fett gar nicht oder nur unbedeutend erhöht, d. h. die spezifisch-dynamische Wirkung der Eiweißkörper wird undeutlich oder verschwindet ganz.

Die spezifisch-dynamische Wirkung der Eiweißkörper verschwindet aber ebenfalls, wenn man die energetische Ausnutzung der Eiweißkörper für reine äußere Muskelarbeit betrachtet. So haben z. B. Loeb und Zuntz[1]) nachgewiesen, daß für reine Steigarbeit, d. h. also nach Abzug des Ruheverbrauchs und der Horizontalkomponente, Tiere bei Fütterung mit eiweißreicher Kost für dieselbe Arbeitsleistung genau dieselbe Menge an Energie verbrauchen wie bei Fütterung mit Kohlenhydraten und bei reinem Fettverbrauch aus den Körperbeständen (Hunger, nach Phlorizindiabetes).

Nach diesen Resultaten spielt also die spezifisch-dynamische Wirkung der Eiweißkörper ganz oder fast ganz nur in den Prozessen eine Rolle, die in ihrer Gesamtheit den Ruhewert ausmachen; und diese Tatsache ist naturgemäß sehr wichtig, wenn wir eine Erklärung für diese Erscheinung suchen wollen.

Ganz ist die spezifisch-dynamische Wirkung der Eiweißkörper noch nicht aufgeklärt: sie läßt sich aber doch in ihren Hauptzügen verfolgen. Jedenfalls ist sie kein einfaches, sondern ein komplexes Problem: die Umsatzsteigerung nach Eiweißfütterung beruht zweifellos auf mehreren völlig voneinander getrennten Ursachen.

Ein großer Teil des beobachteten Mehrumsatzes beruht sicherlich nicht darauf, daß die Eiweißkörper an sich eine geringere Leistung (zur Deckung eines gegebenen Bedarfs) darbieten, also eine wirkliche energetische Minderwertigkeit zeigen, sondern umgekehrt auf einer Steigerung des Bedarfs selbst. Es werden also die Leistungen des Ruhestoffwechsels gesteigert und damit naturgemäß auch der Umsatz. Auch hierfür sind sicherlich mehrere Ursachen gegeben, und zwar sind die wichtigsten von zweierlei Art.

---

[1]) Loeb und Zuntz, Bedeutung der verschiedenen Nährstoffe als Erzeuger der Muskelkraft. Arch. f. Anat. u. Phys. 1894, 541.

Erstens einmal scheint es sicher zu sein, daß Fütterung mit eiweißreicher Nahrung einen stärkeren direkten Reiz auf die Zellen ausübt, ihren Stoffwechsel zu steigern, als die mit Kohlenhydraten und Fetten. Ob dies eine Eigenschaft der reinen Eiweißkörper selbst ist, oder ob es sich nicht vielmehr stets um die Begleitstoffe bei eiweißreicher Nahrung handelt, läßt sich generell nicht entscheiden, bei Fleischnahrung finden sich jedenfalls nichteiweißartige Begleitstoffe in der Nahrung, die als Reiz auf den Stoffwechsel wirken (Zuntz). Außerdem ist es aber sehr wahrscheinlich, daß auch einige der beim Abbau der Eiweißkörper entstehenden Stoffe als direkter Reiz auf die Zellen wirken, zum mindesten hat dies Steck[1]) im Zuntzschen Laboratorium für das Hauptabbauprodukt der Eiweißkörper, den Harnstoff, nachgewiesen, der sowohl bei Fütterung als auch bei Injektion in die Blutbahn eine Steigerung des Umsatzes bewirkt; und Tangl[2]) hat noch nachgewiesen, daß diese spezifische Stoffwechselsteigerung nicht ausschließlich auf einer Steigerung der Arbeit der Resorptions- und Exkretionsorgane beruht.

Lusk[3]) fand eine erhebliche Steigerung des Umsatzes nach Verfütterung der Aminosäuren, die so groß ist, daß sie nicht allein durch Energieverlust bei der Desaminierung erklärt werden kann (s. u.).

Ein weiterer Teil der Umsatzsteigerung nach Fütterung von Eiweißkörpern ist auf eine erhöhte Tätigkeit bestimmter Organe zurückzuführen. Es tritt eine Steigerung der Verdauungsarbeit nach Zuntz ein, die wohl in der Hauptsache in einer Steigerung der Drüsensekretion des Darmes und seiner Anhänge besteht; nebenher muß aber auch eine Steigerung der Nierenarbeit bei der Absonderung größerer Mengen von Harnstoff eintreten. Alle diese Vorgänge sind naturgemäß mit Energieverbrauch verbunden; es ist also klar, daß sie den Umsatz bei Eiweißfütterung steigern müssen.

Es hat indessen nicht den Anschein, als ob diese Steigerung des Bedarfes allein die Ursache wäre für die unter den

---

[1]) Steck, Verhdl. d. Physiol. Ges. zu Berlin, Dezember 1909.

[2]) F. Tangl, Die Arbeit der Nieren, diese Zeitschr. 34, 1, 1911.

[3]) Graham Lusk, Animal calorimetry XI, Journ. of Biolog. Chem. 20, 555, 1915.

genannten Umständen zu beobachtende spezifisch-dynamische Wirkung der Eiweißsubstanzen; es muß wohl doch noch eine gewisse Minderwertigkeit der Eiweißkörper an sich für die Arbeitsleistungen herangezogen werden, eine wirklich spezifische Eigenschaft im Sinne Rubners. Für eine solche gibt es nun eine recht einfache Erklärung, auf die man wahrscheinlich den Rest des Mehrumsatzes bei der Eiweißfütterung zurückführen kann. Nach den Grundlagen der Energielehre ist unter den gegebenen Bedingungen des Organismus eine restlose Ausnutzung der Energie für die Muskelarbeit nur dann möglich, wenn die chemische Umsetzung in den Muskelelementen selbst erfolgt; eine völlige Verwertung der in den Körper eingeführten Energie kann also nur dann eintreten, wenn die Stoffe selbst noch mit einem unverminderten Vorrat an freier Energie an die Muskelelemente gelangen. Dies ist, worauf Rubner hingewiesen hat, für die Eiweißkörper so gut wie sicher nicht der Fall. Es ist im höchsten Maße unwahrscheinlich, daß irgendwie erhebliche Mengen von Eiweißkörpern selbst oder ihren hydrolytischen Spaltprodukten, also Aminosäuren, als solche im Muskel oxydiert werden; denn wenn dies der Fall wäre, so müßte bei starker Muskelarbeit die Stickstoffausscheidung im Harn' die bei Ruhe ganz erheblich übertreffen, was bekanntlich gar nicht oder nur in sehr geringem Umfange der Fall ist. Wenn überhaupt eine Steigerung vorhanden ist, so ist sie ohne weiteres auf einen gesteigerten Zerfall lebendiger Substanz infolge stärkerer Abnutzung zurückzuführen, steht aber jedenfalls in keinem zahlenmäßigen Verhältnis zu der geleisteten Mehrarbeit. Es werden also sicherlich nicht stickstoffhaltige Eiweißspaltprodukte selbst im Muskel energetisch ausgenutzt, sondern vielmehr diejenigen Stoffe, die nach der Desaminierung der Eiweißspaltprodukte dem Körper zur Verfügung stehen, jene stickstofffreien Stoffe, wahrscheinlich Ketosäuren u. ä., die in ihrer chemischen Natur zwischen Kohlenhydraten und Fetten unterzubringen sind. Es kann nun kaum einem Zweifel unterliegen, daß bei jenen Vorgängen der Desaminierung, die hauptsächlich in der Leber stattfinden, bereits geringfügige Oxydationen an dem Molekül der Stoffe eintreten, die sicherlich mit einer, wenn auch vielleicht nicht sehr erheblichen Vermin-

derung der freien Energie verbunden sind. Diese stickstofffreien Reste der Eiweißsubstanzen bringen also tatsächlich dem Muskel nicht mehr den vollen Gehalt an freier Energie zu, wie ihn die Eiweißkörper selbst enthalten haben; und daraus folgt ohne weiteres, daß sie eben dort auch nicht mit derselben maximalen Arbeit umgesetzt werden können wie die Fette und Kohlenhydrate, wenn diese unverändert zum Muskel gelangen und erst dort oxydiert werden. Der calorische Gesamtwert der Eiweißumsetzung dagegen wird natürlich dadurch nicht angetastet, denn bei jenen irreversiblen Vorgängen, die z. B. in der Leber stattfinden, wird bereits ein Teil der Gesamtenergie der Eiweißkörper als Wärme freigesetzt und kommt dem calorischen Bedürfnis des Organismus, wenn bei niederer Temperatur ein solches vorhanden ist, voll zugute. Ist dagegen ein Wärmebedürfnis nicht vorhanden, so tritt eben die mehr erzeugte Wärme als Überschuß zutage. Man sieht aus diesen Überlegungen, daß für die Eiweißkörper die Annahme verwirklicht ist, die Chauveau fälschlich für die Fette behauptet hat, daß nämlich ein Teil der freien Energie durch vorbereitende chemische Umsetzungen verloren geht, bevor die Stoffe zur definitiven Oxydation und Arbeitsleistung in die Muskelelemente gelangen.

Es fragt sich nun, ob diese Erklärung neben der erwähnten Steigerung des Bedarfs an sich ausreichend ist, um die spezifisch-dynamische Wirkung voll zu erklären. Es bliebe nämlich noch theoretisch die weitere Möglichkeit, daß die Eiweißkörper oder ihre Umwandlungsprodukte, wie sie in die Muskelzelle selbst gelangen, bei einem gleichen Gehalt an Gesamtenergie eine geringere freie Energie besitzen als die entsprechenden Mengen von Fetten und Kohlenhydraten. Für diese Anschauung, daß also die stickstofffrei gemachten Eiweißreste an sich eine geringere freie Energie haben als calorisch gleiche Mengen anderer stickstofffreier Stoffe, ist bisher ein Beweis nicht zu erbringen; im Gegenteil spricht manches dagegen, und vor allen Dingen die obenerwähnten Versuche von Zuntz, die gezeigt haben, daß der Bedarf für den reinen Arbeitswert, also den Leistungszuwachs, bei Fütterung mit Eiweiß quantitativ genau so gut gedeckt wird wie mit calorisch gleichen Mengen von Kohlenhydraten und Fetten. Da alle die bisher aufge-

führten Gründe für die spezifisch-dynamische Wirkung: sowohl die Steigerung des Zellbedarfes als auch die Verminderung der freien Energie durch vorbereitende Umwandlungen in der Leber, ausschließlich zur Steigerung des Ruheumsatzes beitragen, müßte sich dem entgegen ein irgendwie erheblich geringerer Gehalt an freier Energie bei den Substanzen, die in den Muskel selbst gelangen, unbedingt bei dieser vergleichenden Messung des Verbrauchs bei gesteigerter Nettoleistung herausstellen. Dies ergibt sich aus folgender Überlegung: der mit der Desaminierung verbundene Energieverlust kann bei der Messung des reinen Arbeitsumsatzes nicht in Erscheinung treten, weil bei der Steigerung der Arbeitsleistungen im Muskel bei eiweißreicher Kost nur bereits vorbereitete, stickstoffrei gemachte Eiweißbruchstücke oxydiert werden können. Eine Steigerung der Desaminierung selbst, also ein Heranziehen weiterer Reserven von Volleiweiß oder Aminosäuren zum Zwecke der Verbrennung in den Muskeln, ist auszuschließen, da sonst wiederum bei jeder stärkeren Muskelarbeit eine größere Stickstoffausscheidung im Harn konstatiert werden müßte. Der Organismus zieht zur Leistung größerer Arbeit bei eiweißreicher Kost eben nur so lange die Eiweißabbaustoffe heran, wie er genügende Mengen davon vorrätig hat; da die Desaminierung selbst größerer Eiweißmengen schon bald nach der Aufnahme ziemlich weit fortgeschritten zu sein pflegt, so sind stickstofffreie Bruchstücke wenigstens für die erste Zeit der Arbeit genügend vorhanden; sind sie erschöpft, so werden eben Fette oder Kohlenhydrate stärker herangezogen, nicht aber geht der Organismus zu einer mit Energieverlust verbundenen merklichen Desaminierung neuer Eiweißreserven über. Es wird also auch bei größerer Arbeitsleistung der gesamte mit dem vorbereitenden Eiweißumsatz verbundene Energieverlust nur im Ruhestoffwechsel aufzufinden sein; eine weitere verlustbringende Umwandlung des dem Muskel zugeführten Materiales findet nicht mehr statt, wenn auch die Arbeitsanforderungen größer werden.

Ein unter diesen Umständen sichergestellter Unterschied im energetischen Wert könnte also nicht mehr auf vorbereitende Umsetzungen abgeschoben werden: Wenn diese dem Muskel zugeführten Stoffe im Verhältnis zu

dem Umsatz der Fette und Kohlenhydrate eine schlechtere Ausnutzung für die Arbeit zeigten, d. h. würde der Nettoverbrauch für die reine Steigarbeit, in Wärmeeinheiten gemessen, größer ausfallen als bei Fetten und Kohlenhydraten, so wäre dies nur auf einen effektiven Unterschied im Verhältnis der freien Energie zur Gesamtenergie zurückzuführen. Da dies nach den Arbeiten von Zuntz nicht der Fall ist, so spricht alles dafür, daß das Verhältnis der freien Energie der desaminierten Eiweißbruchstücke zu ihrer Gesamtenergie zum mindesten nicht in einem Ausmaße von dem gleichen Verhältnis bei Kohlenhydraten und Fetten verschieden ist, daß die Differenzen nicht innerhalb der Fehlergrenzen lägen.

Wir kommen also nach der ausführlichen Betrachtung der scheinbaren Ausnahme der spezifisch-dynamischen Wirkung wiederum zu der Feststellung, daß uns vorläufig ein Arbeiten mit dem theoretisch einwandfreien Maßstab der freien Energie keine Vorteile bringt, und daß wir bis auf weiteres ruhig an dem gewohnten Maßstab der Calorienrechnung festhalten können, da eine deutliche Verschiedenheit zwischen der Wärmetönung und der maximalen Arbeit bei den zu Arbeitszwecken dienenden Nährstoffen nicht nachweisbar ist.

Auf weitere mit diesem Problem zusammenhängende Fragen, insbesondere die verschiedenen Quellen der tierischen Wärme und den Mechanismus der Energietransformationen werde ich in einer größeren, seit nahezu zwei Jahren druckfertig vorliegenden Arbeit: „Der Mensch als Kraftmaschine“ zurückkommen.

Analyse der Haferpflanze, insbesondere der Strohteile.

Von

R. von der Heide.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der Kgl. landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 13. Dezember 1916.)

Als gegen Ende des Jahres 1914 noch große Sorgen bestanden, ob das plötzlich auf Eigenproduktion angewiesene deutsche Volk mit den zur Verfügung stehenden Nährmitteln auskommen würde, als einige Monate nach der durch Beschluß vom 25. Januar 1915 erfolgten Sicherstellung der Getreidevorräte des Landes die gleiche Maßnahme bezüglich der Kartoffeln unvermeidlich schien, da mußte die Behauptung, das bisher für die Ernährung der Tiere wenig, für die des Menschen aber überhaupt nicht herangezogene Stroh sei bei feinster Mahlung fähig, eine nennenswerte Rolle in der Streckung des Brotgetreides zu spielen, zweifellos dasjenige Interesse erwecken, das man ihm in der Öffentlichkeit und in den Kreisen der Physiologen entgegenbrachte.

Friedenthal, der diese Wertsteigerung des Strohes durch feinste Vermahlung erreichen wollte, glaubte, daß die im Stroh vorhandenen Nährstoffe bisher noch durch kein geeignetes Zerkleinerungsverfahren genügend freigelegt worden seien und deshalb unbeachtet geblieben wären. In seiner Studie[1]) „Die Nährwerterschließung in Heu und Stroh und Pflanzenteilen aller Art“ schreibt er Seite 19: „Es liegen ältere Analysen der einzelnen Teile des Strohes vor, die zeigen, wie verschieden die Nährstoffe in der Pflanze verteilt sind. Die härtesten, verkieselten und verholzten Teile des Halmes zeigen den

[1]) Leipzig 1915, Reichenbachsche Verlagsbuchhandlung.

geringsten Gehalt an Nährstoffen, während die Blätter und die Ähren sogar erheblichen Nährstoffgehalt besitzen." Weiter unten gibt er an: „Während Haferstroh in den bodennahen, am meisten verkieselten Stengelgliedern 5 % Stickstoffsubstanz und 0,3 % Fett enthält, fanden dieselben Analytiker in den Blättern 9 % Rohprotein und 10 % Fett, während die Ähren sogar 19,3 % (?) Rohprotein und 3 % Fett enthalten sollen". Er fährt fort: „Wenn Verfasser davon sprach, aus Stroh ein Kraftfutter herzustellen, so konnte er sich dabei auf diese Analysen aus der neuesten[1]) Auflage von Kellners Lehrbuch, Die Ernährung der landwirtschaftlichen Nutztiere, Berlin 1912, Seite 315, stützen." Das Fragezeichen zeigt allerdings, daß Friedenthal 19,3 % Rohprotein im Stroh etwas reichlich erscheinen.

Es ist begreiflich, daß der an sich schon verlockende Gedanke, derartige in den Strohmassen schlummernde Riesenwerte dem Lande zugängig zu machen, einen Forscher ganz besonders begeistern mußte, zumal gerade in den Tagen, als es sich darum handelte, alles aufzubieten, um Englands Aushungerungsplan zuschanden zu machen.

Als ich bei Kellner[2]) Näheres über diese hochwertigen Zahlen suchte, fand ich jedoch, daß dieselben keineswegs neuesten Datums sind, sondern einer 1859 von Arendt[3]) herausgegebenen Schrift: „Das Wachstum der Haferpflanzen" entstammen, worin dieser seine mit unendlichem Fleiß in jahrelanger Arbeit gesammelten Untersuchungsergebnisse der einzelnen Teile der Haferpflanze in Buchform abhandelte. In diesem Buche finden sich in der Tabelle 21 auf Seite 84 tatsächlich jene hohen Analysenbefunde, auf die sich Friedenthal stützt.

Stellt man diesen Arendtschen Zahlen für die Bestandteile der Haferpflanze die Analysenbefunde von Haferkorn

[1]) Diese Behauptung erweckt den Anschein, als ob „diese Analysen" neuesten Datums wären. In der Tat bemerkt Kellner, daß sie aus R. Arendt, Wachstum der Haferpflanze. Leipzig 1859, S. 63 entnommen sind.

[2]) l. c.

[3]) Physiologisch-chemische Untersuchungen über Aufnahme, Verteilung und Wanderung der Nahrungsstoffe. Leipzig, F. A. Brockhaus, 1859.

gegenüber, die ebenfalls auf Trockensubstanz bezogen, z. B. nach Müntz[1]) im Durchschnitte 14,1 % Rohprotein und 7,6 % Rohfett betragen, so liegt die Befürchtung nahe, daß da ein Irrtum vorliegt.

Friedenthal hätte ihn und damit manche Polemik vermeiden können. Wäre er nämlich, bevor er seine Theorie von der hohen Wertigkeit des Haferstrohes weiter ausbaute, etwa auf Grund seines eigenen Fragezeichens der in Kellners Lehrbuch[2]) zitierten Urquelle nachgegangen, so hätte er in dieser eine baldige Aufklärung für Arendts hohe Nährstoffgehalte im „Stroh" gefunden, wenn er dort nur die schon erwähnte Tabelle 21 auf Seite 84 durchgearbeitet hätte. Er hätte dann ohne weiteres aus den hohen Gehalten an stickstofffreier Substanz, in diesem Falle hauptsächlich Stärke, von 63,45 %, ferner aus den ominösen 19,23 % Rohprotein, mindestens aber aus dem hohen Phosphorsäuregehalt von 0,978 % gegegenüber den gleich benachbart für die Halmteile angeführten Phosphorsäurezahlen zwischen 0,08 und 0,18 % merken müssen, daß Arendts „Ährchen" nicht Stroh, sondern die mit Körnern noch besetzte volle Ähre der Haferpflanze bedeuten.

Arendts Buch vom Jahre 1859 braucht aber keineswegs die einzige Quelle für jemanden zu sein, der sich der Frage der Strohverwertung widmen will; denn auch die neuere Literatur bietet Analysen von Haferstroh. Diese sind zwar meistens summarisch, sie geben die Bestandteile von Stroh-Durchschnittsproben, also der Halme, Blätter und (natürlich leeren) Ährenreste zusammen wieder und zeigen begreiflicherweise recht niedrige Zahlen. So findet man z. B. bei C. Böhmer[3]) Handbuch der Kraftfuttermittel, Seite 261, gelegentlich eines Vergleichs von Reisspelzen mit Haferstroh für letzteres 3,40 % Rohprotein und 1,97 % Fett.

Ferner bei J. König[4]), Seite 359 für Haferhülsen (Deckspelzen) 1,2 bis 3,0 Rohprotein und 0,4 bis 1,3 % Fett.

---

[1]) E. Pott. Handbuch der tierischen Ernährung, 2. Bd., 1. Hälfte, S. 461.

[2]) l. c.

[3]) Verlag P. Parey, Berlin 1903.

[4]) Untersuchung landwirtschaftlicher und gewerblich wichtiger Stoffe, 4. Aufl., 1911. Verlag P. Parey.

Man findet in Anbetracht solcher Zahlen im Verein mit praktischer Erfahrung in der Literatur keine besondere Wertschätzung derartiger Futtermittel ausgesprochen. So schreibt Pott[1]) im Anschluß an eine Besprechung der Fabrikation der zur menschlichen Nahrung dienenden Hafergrütze: „Die abgesonderten Hülsen oder Schalen bilden die ‚Haferspelzen', die ein minderwertiges Futtermittel sind". Einige Zeilen weiter, unter Haferkleie, heißt es: „Als Haferkleie werden aber häufig gemahlene Haferspelzen unreellerweise in den Futtermittelhandel gebracht". Richtige Haferkleie enthält

90,5 % Trockensubstanz,
8,0 % Protein,
3,6 % Rohfett,
51,0 % N-freie Extraktivstoffe,
21,9 % Rohfaser,
6,0 % Asche.

Die im Handel vorkommenden Haferkleien bestehen indessen meistens vornehmlich aus gemahlenen Hülsen, was übrigens an dem reisfuttermehlartigen Aussehen kenntlich ist. Solche falschen Haferkleien enthalten[2]):

90,4 % Trockensubstanz,
2,6 % Rohprotein,
1,1 % Rohfett,
51,4 % N-freie Extraktivstoffe,
30,3 % Holzfaser,
5,0 % Asche.

F. Honcamp[2]) beschreibt 1906 einen Verdauungsversuch an einem Hammel mit Haferschalen (Spelzen), wobei verdaut wurden: vom vorhandenen Rohprotein nur 6,2 %, vom Rohfett 35,3 %, von den Kohlenhydraten 36,5 % und warnt davor, große Spelzengaben zu verfüttern. Soweit die hier angeführte neuere Literatur die Verwertung von Haferstroh und Strohteilen (Spelzen) ungünstig beurteilt, geschieht dies natürlich auf

[1]) E. Pott, Handbuch der tierischen Ernährung und der landwirtschaftlichen Futtermittel, 3. Bd., 2. Hälfte, S. 172.

[2]) Vgl. H. Schulze, Hildesh. landw. Vereinsblätter 1890, 642; F. Honcamp, Landw. Vers.-Stat., 64, 447, 1906; E. Haselhoff und Mach, Brunnemann, Landw. Centr.-Bl. f. d. Prov. Prosen 1889, Nr. 46.

Grund von Fütterungsversuchen mit grob zerkleinerten Stoffen. Deshalb lag es Friedenthal nahe, die günstigen Erfahrungen, die er mit frisch vermahlenen Gemüsen gemacht hatte, auch auf andere Pflanzen auszudehnen.

Bevor ich näher auf meine Arbeit eingehe, die einerseits eine Nachprüfung der Arendtschen Befunde über die Zusammensetzung der einzelnen Haferstrohbestandteile, andererseits eine auf moderner Betrachtungsweise beruhende Erweiterung unserer Kenntnis derselben bezweckt, muß ich Arendts Arbeitsweise kurz erwähnen.

Es kann bezüglich des Arendtschen Buches wohl ohne Übertreibung behauptet werden, daß die landwirtschaftliche Literatur nur wenige derartige Dokumente entsagungsvollen Fleißes aufzuweisen hat. Arendt hatte in Möckern auf einem Versuchsfelde nach sechs ihm bekannten vorhergehenden Bauperioden Hafer gepflanzt, diesen geteilt in fünf Wachstumsperioden von je 11 bis 12 Tagen geerntet, die Ernten, soweit es das Wachstum gestattete, geteilt in untere, mittlere, obere Stengel, ferner in untere, obere Blätter und Ährchen und diese Abteilungen auf anorganische und organische Bestandteile untersucht. Er gibt, um Differenzen mit späteren Bearbeitern dieses Gebietes zu vermeiden, die von ihm eingehaltene Arbeitsweise an. Wichtig ist, daß er, um den wirklich vorhandenen anorganischen Schwefel und das Chlor festzustellen, diese Elemente ohne Veraschung nach eigenem Verfahren ermittelt (Seite 31). Leider hat Arendt nicht angegeben, nach welcher Methode er das Eiweiß bestimmte. Er dürfte den Stickstoff nach Will-Varrentrapp mit Natronkalk in Ammoniak übergeführt haben; in Roses Handbuch über analytische Chemie, Band 2, aus dem Jahre 1851, Seite 822, wird angegeben, daß die Methode der eben genannten Forscher die gebräuchlichste sei, um den Stickstoffgehalt der kohlenstoffhaltigen Substanzen zu bestimmen. Das gewonnene Ammoniak wurde damals als Platinsalmiak zur Wägung gebracht und daraus das Protein berechnet.

In eingehendsten Tabellen stellt Arendt seine erhaltenen Zahlen nach verschiedenen Gesichtspunkten zusammen und bespricht sodann die prozentische Zusammensetzung der ganzen Pflanze und ihrer Teile während der einzelnen Wachstumsperioden, ferner die Aufnahme, Verteilung und Wanderung der

Nahrung während des Wachstums der Haferpflanze. In einer allgemeinen interessanten Zusammenfassung bespricht er in 60 Punkten die Veränderungen, denen die organischen und anorganischen Bestandteile seiner Haferpflanzen im Laufe der von ihm analytisch kontrollierten fünf Perioden unterworfen waren.

Die vorliegende Arbeit ist veranlaßt durch Zweifel an der Richtigkeit der Basis von Friedenthals Strohmehl-Verwertungsplänen, d. h. an den Friedenthalschen Angaben über die chemische Zusammensetzung der einzelnen Teile des Haferstrohes; sie knüpft deshalb an Arendts V. Periode (Analyse der Teile von ausgereiftem Hafer) an.

Die von mir analysierten Halme hatten eine Länge von 105 bis 131 cm, im Durchschnitte 124 cm. Die Rispen hatten eine Länge von 14 bis 19 cm, durchschnittlich 16 cm, und die unteren 3 Glieder am Halme waren 58 bis 70 cm lang, im Durchschnitt 61 cm. An den Rispen saßen 17 bis 52 Spelzen, die im Durchschnitt auf 48 vorhanden gewesene Haferkörner schließen ließen. In dem ausgedroschenen Haferstroh bzw. in dessen Ähren sind noch Körner gefunden worden. Es kamen davon auf je 100 Halme 17 bis 39, im Durchschnitt 29 Stück, die teils unreif, teils taub waren und deren Minderwertigkeit hauptsächlich durch ihre Gewichtsverhältnisse, weniger auffallend durch ihre chemische Zusammensetzung charakteristisch gekennzeichnet erschien; denn je 1000 derartig sitzen gebliebene Körner wogen 15,47 g, 13,64 g, 12,75 g, 11,41 g, während von den ausgedroschenen Körnern 1000 sehr gute: 41,68 g, 1000 gute: 37,54 g und 1000 etwas kleinere, aber von guter Mittelkorngröße: 29,85 g wogen.

Nach Hoffmeister[1]) besitzen:

1000	große Haferkörner	ein	Gewicht	von	42,3 g
1000	mittlere	„	„	„	„	30,2 g
1000	kleine	„	„	„	„	16,4 g

J. König[2]) gibt darüber folgenden Aufschluß:

1000 Haferkörner haben ein Gewicht von
21,7 bis 42,8, durchschnittlich 27,5 g

[1]) Siehe E. Pott, Handbuch der tierischen Ernährung, 2. Bd., 1. Hälfte, S. 461.

[2]) Vgl. Anmerkung S. 330.

27,1	bis	38,2,	durchschnittlich	31,17	g
19,8	„	29,1,	„	25,4	g
29,1	„	33,2,	„	31,2	g
25,1	„	30,6,	„	27,7	g
24,3	„	34,3,	„	30,9	g
27,3	„	33,0	„	29,9	g

Man darf aus den Gewichtszahlen für den Ausdrusch des von mir benutzten Haferstrohes den Schluß ziehen, daß zunächst, was das Korn betraf, ein guter Hafer vorlag. Arendt (Seite 17 bis 20) hatte bei seiner Ernte in den Beetfurchen seines Feldes auffallend mageren Hafer beobachtet, dessen Stroh sich auch bei der Analyse hinsichtlich der stickstoffhaltigen Substanz im wahren Sinne als „mager" erwies. Er schied solche Halme aus und zog nur „fette", etwa 1,30 m hohe, möglichst gleichmäßige Pflanzen zu seinen Untersuchungen heran. Die Unterschiede in der Zusammensetzung „fetter" und „magerer" Halme zeigt seine Tabelle Seite 19. Sie fallen besonders bezüglich der stickstoffhaltigen Substanz stark zugunsten der fetten aus.

Neben der Güte der Körner meines Ausdrusches bürgt mir auch die oben erwähnte Länge der von mir ausgewählten Halme dafür, daß ich ein ähnlich gutes „fettes" Ausgangsmaterial hatte, wie es das Arendtsche war, und was mir besonders im Hinblick auf die zu erwartenden Befunde an stickstoffhaltiger Substanz von Wichtigkeit war.

Die in meinem ausgedroschenen Stroh „sitzen gebliebenen" Körner wurden sorgfältig ausgelesen und für sich ebenso wie die beim Dreschen gewonnenen analysiert. Hier gebe ich die dabei gefundenen Werte wieder nnd schließe zum Vergleich Analysen nach Pott und König für Haferkörner schlechtweg und die schon angedeuteten von Arendt auf Seite 84 unter der Bezeichnung „Ährchen" V. Periode an. Des leichteren Überblicks wegen sind alle, auch die Zahlen von Pott und König, auf Trockensubstanz umgerechnet.

Betrachten wir nunmehr die Unterschiede der Zahlen in den einzelnen Kolonnen.

Während die Aschenzahlen und ebenso die Kieselsäurezahlen der von mir analysierten Körner gar nicht abweichen von denen von König und Pott angegebenen und nur ein

Bezeichnung	Asche	SiO_2	Organ. Substanz	Stickstoff	Roh-protein	Äther-extrakt	Rohfaser	Kohlen-hydrate
Körner (sitzen geblieben) . . .	4,03	2,35	95,97	1,917	12,262	5,39	16,21	62,11
Körner (ausgedroschen) . .	3,15	1,06	96,85	1,972	12,334	5,68	12,56	66,28
Körner (nach J. König) . .	3,46	—	96,54	1,88 } berechnet	11,75	6,04	11,44	67,31[1])
Körner (nach Pott)	3,46	—	96,54	2,03 } berechnet	12,70	5,77	11,55	66,52
Ährchen (nach Arendt) . . .	2,68	0,70	97,32	3,044	19,269	2,99	11,60	63,46

wenig von den „Ährchen" des Arendt, so ist der Kontrast im Protein geradezu auffallend. Auf S. 335 habe ich bereits angedeutet, daß Arendt das Protein wahrscheinlich aus dem Stickstoff von gebundenem Platin-Salmiak berechnet hat. Welcher Fehler ihm in der Analyse, die er, aus der ganzen Anlage seiner Arbeitsmethode zu schließen, vielmals wiederholt hat, dabei untergelaufen ist, kann ich leider nicht herausfinden. Wenn auch die Methode der N_2-Gewinnung nach Will-Varrentrapp keineswegs heute als erstklassig bezeichnet werden kann, so ist sie immerhin doch so genau, daß Fehler bis zu 50 % und mehr für ausgeschlossen erklärt werden müssen. Arendt fand 3,04 % N_2 in seinen Ährchen und ich in den sitzen gebliebenen bzw. ausgedroschenen Körnern 1,92 und 1,97 %; identisch mit meinen Befunden sind die aus König und Pott berechneten N_2-Werte für Körner 1,88 und 2,03 %.

Auffallend ist ferner, daß Arendt in seinen „Ährchen" eine sehr niedrige Zahl für Ätherextrakt angibt, nämlich nur 2,99 %, wogegen in meinen Körnern 5,39 und 5,68 % sich befinden und ebenso in den von König und Pott angegebenen 5,77 und 6,04 %.

Der Gehalt an Rohfaser wie der an Kohlenhydraten reiht sich ganz in den Rahmen der Durchschnittswerte; für diese

[1]) In J. Königs Tabellen, Untersuchung landwirtschaftlicher und gewerblicher Stoffe (4. Aufl. 1911) 1. Bd., S. 532, ist ein Druckfehler: bei 12,81 % Wasser steht unter Kohlenhydraten: 59,68 %; es muß hingegen heißen 58,68 %; aus diesem letzten Wert berechnet sich auf Trockensubstanz 67,31 % Kohlenhydrat.

sind von König und Pott angegeben 11,55 und 11,44 %. Arendt findet 11,60 % und ich in dem Ausdrusch 12,56 und in den sitzengebliebenen Körnern 16,21 %, was besonders auf eine minderwertige Qualität schließen läßt. Diesem umgekehrt entsprechend fallen die Werte für Kohlenhydrate aus. Normal ist 67,31 und 66,52 %, ebenso meine Zahl für ausgedroschene Körner: 66,28 %. Arendts Wert 63,46 % und die der sitzengebliebenen Körner 62,11 % sind sehr niedrig.

Zusammenfassend muß gesagt werden, daß die Körner meines Ausdrusches sich ganz in den Rahmen der Normalwerte von König und Pott einfügen. Auch die Zahlen für die in den Ähren sitzengebliebenen Körner sind nicht erheblich abweichend, denn infolge ihres niedrigen Gewichtes müssen sie eine größere Menge Rohfaser und ebenso mehr Asche besitzen und dementsprechend weniger fettartige Körper und stickstofffreie Extraktionsstoffe; sie sind also in der Tat, was schon dem äußeren Aussehen und dem Gewicht nach zu schließen war, schlechter Qualität.

Was aber die Ährchen von Arendt anbetrifft, so weisen zunächst die Prozente für Rohprotein und Asche auf eine ausgezeichnete Qualitätsware, die der Rohfaser auf eine normale, jene aber des Ätherextraktes und der Kohlenhydrate auf eine sehr minderwertige Beschaffenheit hin. Naheliegend ist der Schluß, daß Arendts Ährchen nicht als Körner zu bezeichnen sind. Die Ährchen bedeuten zweifellos: Körner mit samt den Spelzen. In der Tat läßt A. in seinem „Wachstum der Haferpflanze", S. 21, diese Vermutung zu: er schreibt: „. . . . die Ährchen wurden von der Rispe abgestreift, so daß die Stiele der einzelnen Ährchen beim obersten Stengelglied blieben." Über diese Teile sowie über die Rispen einzeln genommen, hat Arendt auch gar nichts in seinem Werke erwähnt. Um so weniger verständlich ist dann aber sein hoher Befund im Stickstoff. Außerdem müssen die betr. Gehaltszahlen für Spelzen die Werte der Körner herabdrücken in: organische Substanz, Protein und Ätherextrakt; für Rohfaser sowohl wie Asche müssen sie die Prozentwerte erhöhen.

Da ich bei der von mir eingeschlagenen und gleich zu besprechenden Arbeitsweise die Spelzen getrennt von den Körnern untersucht habe, so bin ich in der Lage, durch nach-

stehende Zusammenstellung den „verdünnenden" Einfluß der Haferschalen auf die verschiedenen Bestandteile der Körner hinreichend anzudeuten.

In der folgenden Tabelle sind zunächst die Analysendaten von Spelzen und ausgedroschenen Körnern, die, um einen einfacheren Vergleich mit Arendts „Ährchen" zu gestatten, auf Trockensubstanz umgerechnet sind.

	Asche	SiO_2	Organ. Subst.	Stickstoff	Rohprotein	Ätherextrakt	Rohfaser	N_2-freier Extr.
Spelzen . . .	8,27	5,00	91,73	1,17	7,31	2,14	23,32	58,96
Körner ausgedroschen .	3,15	1,06	96,85	1,97	12,33	5,63	12,56	66,33
Ährchen nach Arendt . .	2,68	0,70	97,32	3,04	19,27	2,99	11,60	63,46

Es ist zunächst die Frage zu diskutieren, in welchen Mengenverhältnissen die Spelzen und die Körner an Arendts „Ährchen" beteiligt sind. Wie später noch genauer gezeigt wird, habe ich durch Wägung festgestellt, daß an je 100 Halmen 3,809 g Spelzen sitzen. Da andererseits durchschnittlich 48 Körner an einem Halm gezählt wurden, so setzt sich das Gewicht der zu 100 Halmen gehörigen Ährchen zusammen aus

100 mal Körner = 2,985 × 48 = ... 131,390 g
Spelzen von 100 Halmen = ... 3,809 „
d. h. die Ährchen von 100 Halmen im Sinne
von Arendt wiegen . . . . 135,199 g.

In diesen Ährchen im Gewicht von 135,199 g ist folgendes enthalten:

	Trocken-Substanz	Asche	SiO_2	Organ. Subst.	Stickstoff	Rohprotein	Ätherextrakt	Rohfaser	N_2-freier Extr.
Körner . .	126,015	3,969	1,333	122,046	2,486	15,544	7,092	15,833	83,577
Spelzen . .	3,503	0,290	0,175	3,213	0,041	0,256	0,075	0,817	2,066
„Ährchen" .	129,518	4,259	1,508	125,259	2,527	15,800	7,167	16,650	85,643

Diesem gegenüber seien die Zahlen von 100 „Ährchen" nach Arendt, Tab. 22, S. 85, gestellt:

	Trocken-Substanz	Asche	SiO_2	Organ. Subst.	Stickstoff	Rohprotein	Ätherextrakt	Rohfaser	N_2-freier Extr.
Arendts Ährchen .	128,000	3,429	0,893	124,571		24,602	3,931	14,890	81,148

Mit Ausnahme des Proteins und des Ätherextraktes stimmen die übrigen Zahlen mit Arendts Daten gut überein.

Aus dem Gesagten ergibt sich, daß Friedenthal unvorsichtig in seiner „Nährwerterschließung in Heu und Stroh“ S. 19 zitiert, wenn er schreibt: „Die Ähren des Haferstrohs sollen 19,3 % (?) Rohprotein und 3 % Fett enthalten.“ Denn Arendt spricht in seinem oft genannten Werk überhaupt nicht von Haferstroh, sondern von der **Haferpflanze**. Ferner ist beim genauen Studium jener Arendtschen Arbeit klar, daß man Arendts „Ährchen“ als: Körner + Spelzen zu betrachten hat. Friedenthal hingegen versteht unter Ähren: Spelzen + Rispen unter Ausschluß von Körnern. Um die chemische Zusammensetzung dieser „Ähren“ = Spelzen + Rispen zu ermitteln, kann man den oben angeführten Weg einschlagen. Auf Grund meiner Analyse ist in den Rispen enthalten:

7,48 % Wasser,
92,52 % Trockensubstanz,
4,25 % Asche,
0,95 % SiO_2,
88,27 % Organisches,
0,52 % N_2,
3,25 % Rohprotein,
0,90 % Fett,
29,60 % Rohfaser,
54,52 % N_2-freie Extraktivstoffe,

oder auf Trockensubstanz umgerechnet:

4,59 % Asche,
1,03 % SiO_2,
95,41 % Organisches,
0,56 % N_2,
3,51 % Rohprotein,
0,97 % Rohfett,
31,99 % Rohfaser,
58,93 % N_2-freie Extraktivstoffe.

An 100 Halmen befinden sich: 3,809 g Spelzen + 7,454 g Rispen = 11,263 g „Ähren“, die sich aus folgendem zusammensetzen müssen:

	Wasser	Trocken-Substanz	Asche	SiO_2	Organ. Subst.	Stickstoff	Rohprotein	Ätherextrakt	Rohfaser	N_2-freier Extr.
3,809 g Spelzen	0,306	3,503	0,290	0,175	3,213	0,041	0,256	0,075	0,817	2,066
7,454 g Rispen	0,557	6,897	0,317	0,071	6,580	0,039	0,242	0,067	2,206	4,064
11,263 g „Ährchen" ohne Körner	0,863	10,400	0,607	0,246	9,793	0,080	0,498	0,142	3,023	6,130

Daraus läßt sich dann ohne weiteres die gewichtsprozentische Zusammensetzung jener „Ähren" berechnen. Sie enthalten:

92,36 % Trockensubstanz,
5,39 % Asche,
2,19 % SiO_2,
86,97 % organische Substanz,
0,71 % Stickstoff,
4,42 % Rohprotein,
1,26 % Ätherextrakt,
26,85 % Rohfaser,
54,44 % N_2-freie Extraktivstoffe.

Auf absolute Trockensubstanz umgerechnet, sind die Bestandteile in folgendem Mengenverhältnis vorhanden:

5,83 % Asche,
2,37 % SiO_2,
94,17 % organische Substanz,
0,77 % Stickstoff,
4,79 % Rohprotein,
1,37 % Ätherextrakt,
29,07 % Rohfaser,
58,94 % N_2-freie Extraktivstoffe.

Man sieht aus meinen Prozentzahlen in Protein und Fett, wie weit Friedenthals Annahme, 19,3 % Protein und 3 % Fett, von der Wirklichkeit abweicht.

Arendt untersuchte die Haferpflanze in 6 Teilen, nämlich 3 untere Stengelglieder, 2 mittlere Stengelglieder, oberes Stengelglied, 3 untere Blätter, 2 obere Blätter, Ährchen.

Ich verfuhr teils mehr zusammenfassend, teils weiter teilend und untersuchte:

1. die Körner für sich, und zwar, wie schon erwähnt, getrennt als ausgedroschene und

2. als sitzengebliebene Körner;
3. die Spelzen, die Blättchen, welche die Körner umhüllen;
4. die Rispen, die Zweiglein, welche Spelzen nebst Körner tragen;
5. Blätter insgesamt, die am Halme sitzen, also obere und untere zusammen;
6. oberstes Stengelglied (ausschließlich das Knotens), also wie Arendt;
7. untere Stengelglieder, von dem der Erde zunächst sitzenden Knoten einschließlich ab gezählt.

Arendt nahm zu seiner I. Periode 315 Pflanzen,
II. " 435 "
III. " 385 "
IV. " 500 "
V. " 407 "

Seine auf 1000 gestimmten Tabellen verrechnet er aus den Analysen dieser Quanten.

Als es sich für mich darum handelte, für welche Pflanzenmengen ich mich entschließen sollte, nahm ich einige Vergleichswägungen vor, deren unerwartet schwankende Resultate so recht zeigten, daß man bei derartigen Arbeiten die Durchschnittsprobe nicht sorgfältig genug nehmen kann. Ich zählte 100, 200, 300, 500, 600 ausgedroschene Strohhalme, also insgesamt 1700 Stück, ab, wog zunächst diese einzelnen Partien, sodann innerhalb jeder Partie die sitzengebliebenen Körner, Spelzen, Rispen, Blätter, oberste und unterste Stengelglieder und erhielt nachstehende Resultate:

Es hatten je 100 Halme	in der Partie von					in der Gesamtmenge von diesen 1700 Halmen
	100 Halmen	200 Halmen	300 Halmen	500 Halmen	600 Halmen	
ein Gewicht von	**168,218**	**144,354**	**96,776**	**132,926**	**102,288**	**119,166**
Sitzengebliebene Körner						
in der Zahl von . . .	34 Stück	17 Stück	39 Stück	30 Stück	22 Stück	29 Stück
im Gewicht von . . g	0,434	0,193	0,527	0,455	0,379	0,434
Spelzen im Gewicht von g	5,043	3,200	3,809	4,208	3,506	3,809
Rispen " " " g	10,711	7,680	6,851	8,010	6,675	7,454
Blätter " " " g	51,200	42,401	28,538	42,729	32,274	37,002
Oberstes Stengelglied " g	34,778	29,829	22,383	29,534	21,295	25,707
Unterstes " " g	66,052	61,051	34,623	47,990	38,159	44,760

Betrachtet man die Verhältnisse dieser stückweise genommenen Probenahme unter Umrechnung auf die Gewichtseinheit, so finden sich auch da zwar nicht so weitgehende Unterschiede wie bei der, vielfach in agrikulturchemischen Arbeiten beliebten stückweisen Probenahme, doch sind sie hinreichend groß, um auch bei gewichtsweiser Probenahme vor zu kleinen Mengen zu warnen.

Es trafen auf je 100 g Stroh	in der Partie von					in der Gesamtmenge von diesen 1700 Halmen
	100 Halmen	200 Halmen	300 Halmen	500 Halmen	600 Halmen	
Halme in Stück	**59½**	**69¼**	**100⅓**	**75¼**	**97¾**	**86½**
Körner im Gewicht von g	0,26	0,13	0,54	0,34	0,37	0,36
Spelzen „ „ „ g	3,00	2,21	3,93	3,16	3,43	3,27
Rispen „ „ „ g	6,37	5,33	7,08	6,02	6,53	6,32
Blätter „ „ „ g	30,43	29,38	29,53	32,18	31,54	31,05
Oberste Stengelglieder „ g	20,67	20,66	23,13	22,20	20,82	21,61
Unterste Stengelglieder g	39,27	42,29	35,79	36,10	37,31	37,39

Auf Grund dieser Beobachtungen nahm ich natürlich meine Durchschnittsprobe aus der Gesamtmenge dieser 1700 Halme.

Durch diese umfassendere Probenahme gegenüber Arendts Probe aus 407 Halmen in seiner V. Periode glaube ich meine Arbeit auf eine zuverlässigere Basis gestellt zu haben, als dies bei Arendt und den meisten meiner Vorgänger, die ähnliche Aufgaben bearbeiteten, bisher der Fall gewesen sein dürfte. Dadurch, daß in vorliegender Arbeit Arendts „Ährchen" in Körner und Spelzen zerlegt, ferner die Rispen von dem obersten Stengelglied abgetrennt worden sind, ist zunächst ein weiterer Beitrag zur reinen Körneranalyse überhaupt gebracht, insbesondere sind aber die bisher analytisch unbeachtet gebliebenen Körnerverluste beim Ausdreschen derart bestimmt, daß sie für die Erntebilanz gewürdigt werden können. Durch die Bearbeitung der Spelzen und Rispen liegt jedoch jetzt erst ein vollständiger Überblick über das Haferstroh als solches vor. Ferner erfährt die ganze Untersuchung des Haferstrohes dadurch eine Ergänzung, daß dem Brennwert der einzelnen Haferteile Rechnung getragen wird.

Bezeichnung	1 Asche	2 SiO_2	3 SiO_2-freie Mineral-bestandteile	4 Organische Substanz	5 Stickstoff	6 Rohprotein	7 Ätherextrakt	8 Rohfaser	9 Lösliche Kohlenhydrate	10 Calor. pro Gramm Trocken-S.	11 Calor. pro Gramm organ. Subst.
Spelzen . . .	8,27	5,00	3,27	91,73	1,170	7,312	2,14	23,32	58,96	4368,0	4762,5
Rispen	4,59	1,03	3,56	95,41	0,562	3,513	0,97	31,99	58,93	4477,2	4693,0
Blätter . . .	6,49	2,09	4,40	93,51	0,630	3,934	1,83	32,51	55,23	4562,6	4880,4
Oberstes Stengelglied	4,70	0,36	4,34	95,30	0,325	2,034	0,78	39,43	53,04	4462,8	4683,1
Unt. Stengelglieder . . .	4,65	0,36	4,29	95,35	0,282	1,763	0,55	39,81	53,24	4442,7	4653,2

Bei der Betrachtung der vorliegenden Tabelle, speziell der Kolumnen, in denen die anorganischen Bestandteile stehen, fällt sofort auf, daß die Spelzen mit 8,27 $^0/_0$ den höchsten Aschengehalt besitzen; dann folgen die Blätter mit 6,49 $^0/_0$. Die Rispen und Stengelglieder bleiben in derselben Größe von über $4^1/_2$ $^0/_0$. Auffallend ist ferner der außergewöhnlich hohe Kieselsäuregehalt von 5 $^0/_0$ in den Spelzen; es folgen wieder die Blätter mit 2 $^0/_0$, dann die Rispen mit 1 $^0/_0$, und gerade die Stengelglieder, die man für die kieselsäurereichsten Teile hielt, haben kaum $^1/_2$ $^0/_0$. Trennt man die Kieselsäure von den übrigen Mineralbestandteilen, so stellt sich als überraschend heraus, daß die Spelzen und Rispen rund 1 $^0/_0$ weniger der übrigen Aschenbestandteile enthalten als die sonstigen Teile der Haferpflanze.

Entsprechend dem hohen Aschengehalt haben die Spelzen die niedrigste Menge (91,73 $^0/_0$) an organischer Substanz, und dann folgen natürlich die Blätter mit 93,51 $^0/_0$. Trotzdem haben die Blätter (Stab 10) den höchsten Brennwert, und berechnet man aus den Zahlen der Stäbe 4 und 10 den Brennwert für 1 g organischer Substanz, so stehen die Blätter mit 4880,4 Cal. an der Spitze, es folgen die Spelzen mit 4762,5 Cal. und dann die Rispen und Stengelglieder.

Der Gehalt an Protein ist in den Spelzen mit 7,3 $^0/_0$ am höchsten, dann kommen die Blätter mit beinahe 4 $^0/_0$, die Rispen mit 3,5 $^0/_0$, die obersten Stengelglieder mit 2 $^0/_0$, während die untersten nur 1,76 $^0/_0$ Stickstoffsubstanz enthalten. Ganz ähnlich verhält es sich mit Fett; die Spelzen mit über 2,1 $^0/_0$

stehen an der Spitze, die untersten Stengelglieder besitzen am wenigsten (0,55 %).

Zu den Fettbestimmungen ist zu bemerken, daß wir nicht, wie wir sonst meist pflegen, die an Alkali gebundenen Fettsäuren bestimmten.

Mit dem Gehalt an Rohfaser verhält es sich gerade umgekehrt; die Spelzen haben nur 23,32 %, dann folgen die Rispen mit 32 %, ebenso die Blätter, und schließlich die Stengelglieder mit 40 %.

Während in der vorstehenden Tabelle lediglich die prozentuale Zusammensetzung von jedem einzelnen Teil der Haferpflanze angegeben ist, so dürfte doch von Interesse sein, zu wissen, aus wieviel Bestandteilen bzw. Nährstoffen sich jeder Teil einer Haferpflanze zusammensetzt; dies läßt sich dann am besten mit Arendts Angaben vergleichen.

Es geschieht dies in ähnlicher Weise, wie es früher (S. 10 und 11) in bezug auf die „Ährchen" schon ausgeführt wurde.

Schon oben wurde bemerkt, daß ich alle Blätter summarisch, im Gegensatz zu Arendt, der die zwei oberen und die drei unteren Blätter getrennt voneinander untersuchte, analysiert habe.

100 Haferpflanzen enthalten 37,002 g Blätter. Ihre Zusammensetzung ist folgende:

	Trockensubstanz	Asche	SiO_2	Organ. Substanz	Stickstoff	Rohprotein	Ätherextrakt	Rohfaser	N_2-freie Extrakt.
37,002 g Blätter	34,315	2,227	0,714	32,088	0,216	1,350	0,629	11,156	18,952

Arendt fand (an 100 Haferpflanzen) in den 2 oberen und in den 3 unteren Blättern summarisch folgendes:

56,600	5,854	2,200	50,746	—	5,848	3,736	17,106	24,056

Rechnet man diese Angaben auf 100 g Trokensubstanz um, so erhält man Nachstehendes:

Meine Blätter		6,49	2,09	93,51	0,630	3,934	1,88	32,51	55,23
Arendts Blätter		10,34	3,89	89,66	—	10,332	6,60	30,22	42,50

Übereinstimmung in den von Arendt und von mir analysierten Blättern besteht nur in der Rohfaser, in allem anderen weichen die Werte mehr oder weniger voneinander ab, am meisten im Ätherextrakt und im Rohprotein.

Was nun das „oberste Stengelglied“ bei Arendt anbetrifft, so versteht er darunter: das oberste Stück vom Halm, vermehrt um die Rispe. Um daher seine Zahlen vergleichen zu können, muß ich zu den 25,707 g oberster Glieder noch 7,454 g Rispen addieren, die an je 100 Stück Haferpflanzen vorhanden sind.

Demnach setzen sich bei mir 100 Stück „oberste Glieder“ im Sinne von Arendt aus folgenden Daten zusammen:

	Trocken-substanz	Asche	SiO_2	Organ. Substanz	Stickstoff	Roh-protein	Äther-extrakt	Rohfaser	N_2-freie Extrakt.
7,454 g Rispen	6,897	0,317	0,071	6,580	0,039	0,242	0,067	2,206	4,064
25,707 g Oberste Glieder	23,876	1,051	0,087	22,825	0,078	0,487	0,188	9,445	12,704
33,161 g	30,773	1,368	0,158	29,405	0,117	0,729	0,255	11,651	16,768

Demgegenüber findet Arendt (S. 85):

	Trocken-substanz	Asche	SiO_2	Organ. Substanz	Stickstoff	Roh-protein	Äther-extrakt	Rohfaser	N_2-freie Extrakt.
100 Stck. „obere Stengelglieder“	22,000	1,416	0,289	20,584	—	2,177	0,623	8,816	8,969

Wertet man diese Daten in Gewichtsprozente (bezogen auf absolute Trockensubstanz) um, so erhält man:

	Trocken-substanz	Asche	SiO_2	Organ. Substanz	Stickstoff	Roh-protein	Äther-extrakt	Rohfaser	N_2-freie Extrakt.
Rispen		4,60	1,03	95,40	0,57	3,51	0,97	31,99	58,92
Oberste Glieder		4,70	0,37	95,30	0,33	2,04	0,78	39,43	53,04
„Oberste Stengelglieder“ im Sinne von Arendt		**4,44**	**0,51**	**95,56**	**0,38**	**2,37**	**0,83**	**37,86**	**54,49**

Arendts Zahlen lauten sodann:

	Trocken-substanz	Asche	SiO_2	Organ. Substanz	Stickstoff	Roh-protein	Äther-extrakt	Rohfaser	N_2-freie Extrakt.
		6,44	**1,31**	**93,56**	—	**9,89**	**2,83**	**37,70**	**43,14**

Aus den nunmehr vergleichbaren Werten ersieht man, daß Arendts und meine Zahlen ungefähr übereinstimmen in der Asche, Kieselsäure und organischen Substanz. Der Rohfasergehalt ist bei beiden derselbe. Gar nicht in Einklang zu

bringen sind wiederum die Werte in der Protein-Kolumne und damit auch die der N_2-freien Extraktivstoffe sowie im Ätherextrakt.

Die letzten Stengelglieder der Haferpflanze hat Arendt für die Analyse zerlegt in 2 mittlere und in 3 untere Glieder. Ich hingegen habe sie alle zusammengenommen der Analyse unterworfen. Um daher diese mit jenen vergleichen zu können, müssen (in Arendts Werk S. 85) die ersten beiden Stäbe reihenweise addiert werden.

	Trockensubstanz	Asche	SiO_2	Organ. Substanz	Stickstoff	Rohprotein	Ätherextrakt	Rohfaser	N_2-freie Extrakt.
44,760 g untere Stengelglieder	41,707	1,938	0,152	39,769	0,118	0,735	0,228	16,602	22,206
Arendts Stengelglieder an 100 Haferpflanzen	39,250	1,995	0,150	37,255	—	2,538	0,643	14,251	19,823

Diese Daten in Prozente (auf Trockensubstanz) umgerechnet, ergeben:

	Trockensubstanz	Asche	SiO_2	Organ. Substanz	Stickstoff	Rohprotein	Ätherextrakt	Rohfaser	N_2-freie Extrakt.
Untere Stengelglieder		**4,65**	**0,36**	**95,35**	0,282	**1,763**	**0,55**	**39,81**	**53,24**
Arendts Stengelglieder		**5,08**	**0,38**	**94,92**	—	**6,466**	**1,64**	**36,31**	**50,50**

Arendts Zahlen stimmen mit den von mir gefundenen bis auf die des Rohproteins sehr gut überein.

Die folgende Tabelle zeigt uns, aus welchen Teilen sich 100 Stück = 119,166 g ausgedroschener Haferpflanzen zusammensetzen, und in welcher Menge die Bestandteile in ihnen enthalten sind.

	Wasser	Trockensubstanz	Asche	SiO_2	Organ. Substanz	Stickstoff	Rohprotein	Ätherextrakt	Rohfaser	N_2-freie Extrakt.
0,434 g Körner	0,051	0,383	0,015	0,009	0,367	0,008	0,047	0,021	0,062	0,237
3,809 g Spelzen	0,306	3,503	0,290	0,175	3,213	0,041	0,256	0,075	0,817	2,066

	Wasser	Trocken-substanz	Asche	SiO_2	Organ. Substanz	Stick-stoff	Roh-protein	Äther-extrakt	Rohfaser	N_2-freie Extrakt.
7,454 g Rispen	0,557	6,897	0,317	0,071	6,580	0,039	0,242	0,067	2,206	4,064
37,002 g Blätter	2,687	34,315	2,227	0,714	32,088	0,216	1,350	0,629	11,156	18,952
25,707 g Oberstes Stengelglied	1,831	23,876	1,051	0,087	22,825	0,078	0,487	0,188	9,445	12,704
44,760 g Untere Stengelglieder	3,053	41,707	1,938	0,152	39,769	0,118	0,735	0,228	16,602	22,206
100 Stück = 119,166 g Haferpflanz.	8,485	110,681	5,838	1,208	104,842	0,500	3,117	1,208	40,288	60,229

Die nachstehende Tabelle gibt an, was in 100 g = 86 $^1/_2$ Stück ausgedroschener Halme gefunden wurde.

	Wasser	Trocken-substanz	Asche	SiO_2	Organ. Substanz	Stick-stoff	Roh-protein	Äther-extrakt	Rohfaser	N_2-freie Extrakt.
0,362 g Körner	0,044	0,318	0,013	0,008	0,305	0,006	0,039	0,017	0,052	0,197
3,262 g Spelzen	0,266	2,996	0,238	0,150	2,758	0,035	0,220	0,064	0,701	1,773
6,323 g Rispen	0,475	5,848	0,269	0,060	5,579	0,033	0,205	0,057	1,871	3,446
31,050 g Blätter	2,254	28,796	1,869	0,599	26,927	0,181	1,133	0,528	9,362	15,904
21,611 g Oberste Stengelglied.	1,476	20,135	0,947	0,074	19,188	0,066	0,410	0,158	7,940	10,680
37,392 g Unterste Stengelglied.	2,550	34,842	1,619	0,127	33,223	0,098	0,614	0,191	13,868	18,550
100 g Halme = 86$^1/_2$ Stück	7,065	92,935	4,955	1,018	87,980	0,419	2,621	1,015	33,794	50,550

Daß die Zahlen der letzten Reihe, die nur rechnerisch gewonnen sind, auf Richtigkeit einen erheblichen Anspruch haben, dafür sollte ich durch folgende Analyse einen Beweis finden. 200 Halme, die wie die früher erwähnten genau ausgelesen sind, deren Gesamtgewicht, sowie die Gewichte der einzelnen Teile leider verloren gegangen sind, wurden insgesamt vermahlen:

6,80%	93,20%	5,14%	1,15%	88,06%	0,416%	2,600%	1,47%	35,60%	48,39%

Diese Übereinstimmung kommt noch mehr zum Ausdruck, wenn man die Daten der vorstehenden Tabellen auf absolute Trockensubstanz umrechnet und ebenso die der Analyse von den oben S. 349 erwähnten 200 Halmen.

	Trocken-substanz	Asche	SiO_2	Organ. Substanz	Stick-stoff	Roh-protein	Äther-extrakt	Rohfaser	N_2-freie Extrakt.
Körner	0,342	0,014	0,009	0,328	0,007	0,042	0,018	0,056	0,212
Spelzen	3,224	0,256	0,161	2,968	0,038	0,237	0,069	0,754	1,908
Rispen	6,293	0,290	0,065	6,003	0,035	0,221	0,061	2,013	3,708
Blätter	30,985	2,011	0,645	28,974	0,195	1,219	0,568	10,074	17,113
Oberste Stengelglied.	21,665	1,018	0,080	20,647	0,071	0,441	0,170	8,544	11,492
Unterste Stengelglied.	37,491	1,742	0,137	35,749	0,106	0,661	0,206	14,922	19,960
	100,000	5,331	1,097	94,669	0,452	2,821	1,092	36,363	54,393
200 Halme	100,00 %	5,51 %	1,23 %	94,49 %	0,447 %	2,79 %	1,58 %	38,20 %	51,92 %

Ein anderes Strohmehl, das zu „Untersuchungen über Strohmehl als Schweinefutter“ von Zuntz und seinen Mitarbeitern Brahm und von der Heide verwendet wurde, im übrigen aber von gleicher Herkunft war, setzte sich wie folgt zusammen:

100,00 %	5,71 %	2,92 %	94,29 %	0,563 %	3,52 %	2,10 %	28,10 %	60,57 %

Daß die Werte im Protein und in der Rohfaser gegenüber denen der darüberstehenden Analyse so stark abweichen, ist nur dadurch zu erklären, daß zu jenem Mahlgut das Ausgangsmaterial wahllos genommen und zufällig mehr Ähren und Blätter gemahlen wurden. Für diese Annahme spricht auch der hohe Gehalt an Kieselsäure.

E. Grandeau[1]) gibt nach 137 von ihm ausgeführten Analysen des Haferstrohes folgende Zahlen:

[1]) E. Grandeau, Compt. rend. des traveaux de Congrès internat. 1881.

	Wasser	Trocken-substanz	Asche	Organ. Substanz	Roh-protein	Rohfett	Rohfaser	N_2-freie Extrakt.
	20,6 bis 12,6	79,4 bis 87,6	3,8 bis 8,9	75,5 bis 78,5	1,6 bis 5,3	0,4 bis 3,6	27,3 bis 3,6	28,2 bis 51,7
Mittel	13,4	86,6	6,2	80,4	3,2	1,4	33,3	42,5

Nach zahlreichen anderen Analysen werden von E. Pott[1]) die Grenz- und Mittelwerte die einzelnen Bestandteile wie folgt festgesetzt:

	23,3 bis 10,0	76,7 bis 90,0			0,9 bis 7,1	0,7 bis 5,5	26,6 bis 54,7	24,8 bis 51,5
Mittel	15,0	85,0	5,4	79,6	3,2	1,6	36,7	38,1

Kellner[2]) gibt folgende Mittelwerte an:

	14,3	85,7	5,7	80,0	3,8	1,6	38,7[3])	35,9

Da indessen diese Werte keinen völlig richtigen Vergleich mit meinen Zahlen gestatten, so sind sie in folgender Tabelle auf absolute Trockensubstanz umgerechnet.

	Trocken-Substanz	Asche	Organ. Substanz	Roh-protein	Rohfett	Rohfaser	N_2-freie Extrakt.
Mittelwerte nach Grandeau	100,0	7,2	92,8	3,7	1,6	38,4	49,1
Mittelwerre nach Pott		6,3	93,7	3,8	1,9	43,2	44,8
Mittelwerte nach Kellner		6,7	93,3	4,4	1,8	45,2	41,9
Von mir berechnete Zusammensetzung des Haferstrohes (vgl. S. 350)		5,33	94,67	2,82	1,09	36,36	54,39
200 Halme		5,51	94,49	2,79	1,58	38,20	51,92

[1]) E. Pott, Handb. d. tierischen Ernährung u. d. landwirtschaftl. Futtermittel 2; 1. Hälfte, S. 315.

[2]) O. Kellner, Die Ernährung der landwirtschaftlichen Nutztiere, 7. Aufl., S. 605.

[3]) In den früheren Aufl. steht: 28,7 % Rohfaser. Dieser Druckfehler hat sich auch in die „Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt" 1, Heft 2, 1915, S. 240 eingeschlichen.

Schluß.

Durch die vorliegenden Untersuchungen dürften die Grundlagen für die Beurteilung des Nährwerts des Strohs gegeben sein. Der Friedenthalschen Behauptung, daß der Nährwert des Strohmehls „größer“ sei „als der der Kartoffel, Mohrrüben, Gemüse oder gar der Magermilch[1])“, ist damit die wichtigste Stütze entzogen. Friedenthal konnte sich nämlich auf seine Lehre auf „ältere Analysen der einzelnen Teile des Strohes“ berufen und mit der kritiklosen Anführung dieser „älteren Analysen“ eine billige Beweisführung erzielen. Friedenthal hat jene „älteren Ergebnisse“, d. h. Arendts Zahlen, gründlich mißverstanden, indem er die zitierten Werte auf Haferstroh bezog, während sie auf die ganze Haferpflanze zu beziehen waren. Die im Stroh erschließbaren Nährwerte sind in der Tat so niedrig, daß die Verwertung des Strohs als menschliches Nahrungsmittel undenkbar ist, falls es nicht gelingt, die Rohfaser und die N-freien Extraktstoffe in verdauliche Substanzen umzuwandeln. Friedenthal selbst ist durch die Wucht der Tatsachen zu einer Modifizierung seiner Anschauungen gezwungen worden. Er begnügte sich schließlich damit, das Strohmehl als ein „Streckungsmittel“ zu empfehlen. Aber auch der gemäßigtere Standpunkt Friedenthals ist heute als völlig unhaltbar zu bezeichnen. Im übrigen sind die Versuche zur Nutzbarmachung des Strohmehls nicht neu. Vor mehr als 15 Jahren bemühte sich die Samenzüchterei von Dippe[2]), ein Strohmehl herzustellen.

Nur den Trugschlüssen Friedenthals verdanken wir es, daß die Frage wieder unverdiente Beachtung, leider auch in der breitesten Öffentlichkeit, fand. Wenn Friedenthals Bemühungen sich besonders darauf richteten, eine recht feine Zermahlung des Strohs zu erzielen, so ist auch damit für die Erhöhung des Nährwertes nichts gewonnen.

Kerp, Schröder und Pfyl[3]) zeigen einwandfrei, daß die Zerkleinerung ohne jeden Einfluß auf die Menge der Stoffe ist,

---

[1]) Die Woche **1915**, Heft 11, S. 366.

[2]) Landwirtschaft u. Gartenbau. Magdeburger Ztg. 14. III. 1915.

[3]) Chemische Untersuchungen zur Beurteilung des Strohmehls, Arb. d. Kaiserl. Gesundh.-Amts **50**, 2, 232.

die bei der Verdauung in Lösung gehen, und daß die Zertrümmerung der Zellwände ohne Bedeutung für die Löslichkeit der Strohbestandteile ist. Nach diesen Untersuchungen würden die im Stroh enthaltenen Stickstoffverbindungen durchaus nicht die Vermahlung des Strohs lohnen. Da nun durch die Vermahlung keineswegs eine Anreicherung an leicht verdaulichen Stoffen erreicht wird, so kommen auch Kerp, Schröder und Pfyl zu dem Ergebnis, daß die Herstellung von Strohmehl ein durchaus unnützes Verfahren ist. Dem entsprechen auch die meisten Ergebnisse der Ausnutzungsversuche mit Strohmehl. Wir[1]) konnten auf Grund der in diesem Bande ausführlich mitgeteilten Stoffwechseluntersuchungen am Schwein dartun, daß die Verfütterung von Strohmehl unrationell ist. Physiologisch betrachtet, zeigt es sich immer deutlicher, daß Friedenthals Grundirrtum darin lag, das Hauptgewicht in dieser Frage auf die feine Vermahlung zu legen, die sich ja bei gehaltreicheren Nahrungsmitteln wie Gemüsen und uns selbst beim Kleeheu als wertvoll erwiesen hat. Für die Ausnutzbarkeit und für die Erleichterung der Verdauungsarbeit wird nur wenig erreicht. Überdies lehren uns die meisten Ausnutzungsversuche, daß die Verfütterung von Strohmehl sogar schädlich wirkt.

Kleberger, Kling und Sauer[2]), sowie Kleberger und Wollstädt[3]) fanden in Versuchen an Menschen und Schweinen, daß die Verabreichung von Strohbrot zu anderer Nahrung sogar die Ausnutzung der verfügbaren Nährstoffe herabsetzt.

Auch Schneidewind[4]) konnte in Versuchen an Schweinen feststellen, daß das Strohmehl als Zulage zur Nahrung einen bedenklichen Rückgang des Lebendgewichts bedingte. Schneidewind warnt geradezu vor der Verfütterung von Strohmehl.

Nicht einmal beim Rindvieh, bei Schafen und Pferden ist die Verabfolgung von fein gemahlenem Stroh von irgendwelchem

---

[1]) Brahm, von der Heide, Zuntz, Untersuchungen über Strohmehl als Schweinefutter, Mitteil. d. D. L. G. **1915**, Nr. 16, S. 226—228.

[2]) Kleberger, Kling und Sauer, Fühlings Landwirtschaftl. Ztg. **1915**, Heft 23/24.

[3]) Kleberger und Wollstädt, Fühlings Landwirtschaftl. Ztg. **1916**, Heft 1.

[4]) Schneidewind, Fütterungsversuche über die Wirkung des Strohmehls, Landwirtsch. Wochenschr. Halle 1916 (18. Jahrg.), S. 57.

Vorteil, empirische Tatsachen, die uns weiter nicht überraschen werden, wenn wir, worauf Zuntz[1]) hingewiesen hat, erwägen, daß das Strohmehl infolge der Belastung und der mechanischen starken Reizung des Darmkanals eine gesteigerte Sekretion von Verdauungssäften bedingt, somit eine erhöhte Abgabe von Eiweiß aus den Darmsekreten.

Nach dem Vorhergehenden und auf Grund der Analysen ist man also wohl berechtigt, das feingemahlene Stroh als ein für den Menschen völlig nutzloses Nahrungsmittel anzusehen. Als Streckungsmittel und Ballast ist das Strohmehl ebenfalls nutzlos, wenn nicht sogar schädlich, da nach dem Urteil von Zuntz, Schneidewind u. a. nicht verwertbares Füllmaterial dem Organismus unnütze Arbeit auferlegt und ihm sogar Eiweiß entzieht. —

Die Frage, inwieweit es möglich ist, durch chemische Eingriffe aus Stroh Nährwerte zu gewinnen, ist von Kellner, von Fingerling und jüngst von uns in dieser Zeitschrift 78, S. 161 bearbeitet worden.

---

[1]) Zuntz, Über Ernährungsfragen, Zeitschr. f. ärztl. Fortbildg. XII, 17.

Die Rolle des Sauerstoffs bei chemischen Einwirkungen auf das tierische Gewebe.

Von

P. G. **Unna** (Hamburg).

(Eingegangen am 1. Dezember 1916.)

Mit 1 Tafel.

Eine Farbmischung von Neublau und Neutralrot, die unter dem Namen „Neutralviolett extra“[1]) bei Hollborn (Leipzig) vorrätig ist, hat neuerdings für die Charakteristik der festen und flüssigen Eiweiße des Gewebes gute Dienste geleistet[2]). Mit ihrer Hilfe ließ sich die Nah- und Fernwirkung des Höllensteins im Gewebe[3]) und die Abspaltung der Salpetersäure aus dem Molekül des Silbernitrats mühelos und eindeutig verfolgen. Im folgenden möchte ich an weiteren Beispielen zeigen, wie man mit Hilfe dieser glücklich getroffenen Mischung chemisch differenter Farben[4]) oxydierende Salze und Säuren von nicht oxydierenden an den verschiedenen Färbungsresultaten der mit ihnen behandelten Gewebe unterscheiden kann.

In der soeben zitierten Arbeit, in welcher Golodetz und ich das NV. in die normale Histologie einführten, stellten wir fest, daß die reduzierenden Eiweiße der Reduktionsorte mit einziger Ausnahme der Haarwurzelscheide und der obersten Hornschichtlage aus der Farbmischung NV. nur das Blau festhalten, also besonders die Muskeln und das Zellprotoplasma der Epithelien, während alle oxydierenden Eiweiße der Sauer-

---

[1]) Dieser Farbstoff möge der Kürze wegen in folgendem mit NV. bezeichnet werden.

[2]) Das NV. wurde eingeführt in einer Arbeit: Unna und Golodetz. „Neutralviolett extra“. Arch. f. mikrosk. Anat. 90, 1916.

[3]) Unna, Die Wirkung des Höllensteins. Zweiter Teil. Derm. Woch. 63, Nr. 41 u. 43, 1916.

[4]) Neutralrot gehört zu den Acinen, Neublau zu den Oxacinen.

stofforte — Kerne, Mastzellen und Knorpel — das Rot fixieren. Die im Manganbilde und Rongalitweißbilde getrennten Darstellungen der Reduktionsorte und Sauerstofforte erscheinen daher bei der Färbung mit NV. zu einem sehr charakteristischen Gesamtbilde vereinigt, so daß wir mit einem Blick eine Übersicht über die Verteilung des Sauerstoffs innerhalb der sauren Gewebsmassen erhalten. Diese wertvolle Analyse der Gewebe erhalten wir jedoch nur, wenn dieselben frisch vereist geschnitten werden; Alkohol-Celloidinschnitte, die künstlich ihres Sauerstoffs beraubt sind, zeigen nur ein monotones Violett.

In der Höllenstein-Arbeit konnte die Färbung mit NV. auch als Indicator für das Eindringen von Säuren in das Gewebe dienen, und es zeigten Vergleiche der Bilder von Ätzungen der Haut mit HCl, H_2SO_4 einerseits und mit HNO_3 andrerseits, daß die Aufnahme ersterer Säuren eine Blaufärbung, die der Salpetersäure eine reine Rotfärbung mit NV. zur Folge hatte, die über das Rotviolett der normalen Sauerstofforte (Kerne) hinaus durch völligen Verlust des Blaus ausgezeichnet war. Die mit HNO_3 geätzte Haut verhält sich also bei NV.-Färbung etwa wie der Chondroitinschwefelsäure enthaltende Knorpel, sie färbt sich intensiv gelbrot, und mittels dieser Reaktion im Verein mit einer ähnlichen Einwirkung der HNO_3 auf die Methylgrün + Pyronin-Färbung konnte der Nachweis geführt werden, daß um den Höllensteinschorf beim lebenden Tier ein Ätzhof sich ausbreitet, der durch Einwirkung frei gewordener Salpetersäure entsteht. Besonders charakteristisch war die Verfärbung an den von der Salpetersäure getroffenen, normalerweise dunkelblau gefärbten Muskeln, deren Farben über Grauviolett und Rötlich bis zum Gelbgrau und Reingelb variierten, je nach der Stärke der Einwirkung des Höllensteins auf die Haut.

Das Gesetzliche in dieser Farbenwandlung drängt dazu, an einer größeren Reihe von Salzen und Säuren den Einfluß auf die NV.-Färbung zu erproben, um vor allem die Hauptfrage nach allen Seiten zu klären, welche Rolle die Oxydation bei diesem Vorgang spielt. An diese Fragestellungen schließt sich dann von selbst die Untersuchung des Einflusses oxydierender Metallsalze auf Grundlage der neuen Neutralviolettfärbung an.

Technik.

Um die komplizierten Verhältnisse, die bei der Vorbehandlung des Gewebes mit verschiedenen stark wirkenden Salzen, Säuren etc. eintreten, besser beurteilen zu können, wurde die Sache dadurch vereinfacht, daß nur ein Gewebe von möglichst einheitlichem Charakter und typischer NV.-Färbung benutzt wurde, das stets in gleichmäßiger Beschaffenheit zu erhalten war, das Herz vom frisch geschlachteten Schwein. Die Muskelsubstanz desselben färbt sich mit NV. dunkelblau und läßt jede Einwirkung einer oxydierenden Substanz deutlich erkennen. Sie enthält neben der Hauptmasse von festem Eiweiß (Myosin), das sich mit NV. blau färbt, eine beträchtliche Menge einer stark reduzierenden Albuminlösung (mit wenig Globulin und Albumosen gemischt), die sich ebenfalls mit NV. blau färbt und zur Tiefe der Gesamtblaufärbung ein Merkliches beiträgt. Nicht gleichgültig für die Färbung ist daher die Anwendung von Wasser bei dem Auswaschen des Überschusses der zur Vorbehandlung gebrauchten Substanz und des Färbemittels.

Der Gang der Untersuchung ist sonach der, daß ein kubisches Stück des Herzmuskels von 1 cm Seitenkante in die zu prüfende Flüssigkeit durchschnittlich $^1/_4$ Stunde eingelegt und dann in Wasser abgespült wird. Für den Fall, daß das Reagens die Färbbarkeit des Gewebes beeinflußt, zeigt sich dieses bei der Färbung mit NV. auf den Gefrierschnitten durch die Bildung eines abweichend gefärbten Rahmens, der das unverändert gefärbte Gewebe des Innern allseitig umgibt. Die Breite des Rahmens richtet sich nach der Tiefe, bis zu der die zu untersuchende Flüssigkeit in der Zeit ihrer Einwirkung eingedrungen ist.

Zur Färbung wird eine $^1/_2$ %ige wässerige Lösung von NV. verwandt. Die mit dem Gefriermikrotom aus dem ausgewaschenen Gewebsstück hergestellten Schnitte von etwa 40 μ Dicke kommen auf 5 bis 10 Minuten in diese Lösung und werden dann, dunkelrotviolett gefärbt, in Leitungswasser vom überschüssigen Farbstoff durch kurzes Abspülen befreit. Eine stärkere Entfärbung im Wasser findet auch bei längerem Verweilen nicht statt. Diese geschieht erst beim Entwässern in

absolutem Alkohol, welcher die Schnitte nämlich nur einseitig entfärbt, indem allein das Neutralrot in gelbbraunen Farbwolken, wie sie der alkoholischen Lösung von Neutralrot entsprechen, sich ablöst, während alles Neublau zurückbleibt. Auf diese Weise entstehen in dem vorher gleichmäßig violett gefärbten Gewebe „rote" und „blaue" Orte.

Man hat den gleichen Eindruck, wie wenn man eine belichtete photographische Platte in eine Entwicklerflüssigkeit bringt und diese so lange einwirken läßt, bis das Bild sichtbar wird. Hier ist es der Alkohol, der die „roten" und „blauen" Orte „entwickelt" und uns auf diese Weise ein topographisches Bild der verschiedenen Farbaffinitäten gibt. Man könnte denken, daß ein geringerer Zusatz des Neutralrots zweckmäßiger wäre, wenn doch ein großer Teil desselben durch den Alkohol wieder entfernt wird. Das ist jedoch nicht richtig. Es muß eine größere Quantität des bei weitem alkohollöslicheren Neutralrots gleichzeitig mit dem Neublau einwirken, wenn dasselbe mit den „rotliebenden" Orten sich genügend alkoholfest verbinden soll. Andernfalls erhält man an den „rotliebenden" Orten auch Blau, nämlich eine blauviolette Mischfarbe, und die schöne einfache Farbverteilung nach blau- und rotliebenden Orten kommt nicht zustande. Andrerseits darf das Differenzieren in Alkohol auch nicht übertrieben werden, da sonst das Rot auch an den rotliebenden Orten leidet. Meist genügt das Hin- und Herbewegen der Schnitte in Alkohol während 10 bis 15 Sekunden. Sieht man, daß keine gelben Farbwolken mehr abgegeben werden, so bringt man den Schnitt in Bergamottöl und dann sogleich auf dem Objektträger in Balsam.

Das Resultat der Färbung wird also hauptsächlich von zwei verschiedenen Umständen beeinflußt, in erster Linie von den verschieden starken Affinitäten beider Farben zu den verschiedenen Gewebselementen, im vorliegenden Falle zu der Muskelsubstanz einerseits, den Kernen andrerseits. In zweiter Linie kommt aber auch die sehr verschiedene Löslichkeit beider Farben in Wasser und Alkohol in Betracht.

Diese Löslichkeitsverhältnisse sind in folgender Tabelle dargestellt.

	Normal		Vorbehandlung mit			
			Aqua dest. $^1/_2$ Stunde		Alkohol abs. $^1/_2$ Stunde	
	Muskeln	Kerne	Muskeln	Kerne	Muskeln	Kerne
Neublau	tief dunkelblau	schwarzblau	dunkelblau	sehr schwach blau	dunkelblau	dunkelblau
Neutralrot	farblos	dunkelrot	farblos	farblos	farblos	farblos
NV.	blau	rotviolett	blau	schwach bläulich	hellblau	schwach blau
Neublau + Neutralrot ää	dunkelblau	blauviolett	dunkelblau	schwach blau	blau	schwach blau

Die Tabelle gibt eine Übersicht über die Veränderungen, die die mit diesen Farben gefärbten Schnitte beim halbstündigen Aufenthalt in Wasser und Alkohol erleiden, einerseits wenn man die Schnitte mit ihnen einzeln färbt, dann zum Vergleich mit der NV.-Doppelfärbung und schließlich bei einer Färbung mit Neublau und Neutralrot zu gleichen Teilen. Die letztere Mischung ist eine solche, die bei der Entwässerung der Schnitte durch Alkohol kein reines Auseinandertreten „roter“ und „blauer“ Orte zuwege bringt.

Die oberste Horizontalreihe beweist, daß Neublau als basische Farbe sowohl Muskeln wie Kerne anfärbt, und zwar normalerweise die Kerne stärker (schwarzblau) als die Muskelsubstanz (tief dunkelblau). Beim halbstündigen Aufenthalt in Wasser zeigt sich aber, daß nun die Kerne viel schwächer blau gefärbt sind als die Muskeln; die Kerne (Sauerstofforte) halten also Wasser gegenüber das Neublau weniger fest als die Muskeln (Reduktionsorte). In Alkohol dagegen verlieren sowohl die Muskeln wie die Kerne gleich wenig Farbe, da Neublau in Alkohol nur wenig löslich ist. Aus der zweiten Horizontalreihe geht hervor, daß Neutralrot allein schon normalerweise eine höchst bedeutsame Auswahl unter den Gewebselementen trifft. Denn obwohl auch zu den basischen Farben gehörig, färbt es die Muskeln (Reduktionsorte) gar nicht an oder nur ganz schwach in einem metachromatischen gelblichen Ton. Die Kerne (Sauerstofforte) dagegen färbt es dunkelrot. Hier zeigt sich nun ein wesentlich anderer Einfluß des Aufent-

haltes der gefärbten Schnitte in Wasser und Alkohol; in beiden Flüssigkeiten entfärben sich die roten Kerne vollständig, was auf die Leichtlöslichkeit des Neutralrots zurückzuführen ist. Man könnte den Einwand erheben, daß durch Wasser und Alkohol vielleicht diejenige Substanz ausgezogen würde, die von Neutralrot angefärbt wird. Aber dieser Einwand ist bereits dadurch widerlegt, daß die ebenso lange in Wasser und Alkohol gebrachten Schnitte sich mit Neublau fast in normaler Stärke färben, die von Neutralrot zu färbende Substanz der Kerne also jedenfalls in den extrahierten Schnitten noch vorhanden ist.

Wir verstehen jetzt schon besser die Wirkung der NV.-Mischung auf die Muskelsubstanz. Die Muskeln werden deshalb blau gefärbt, weil sie das Neutralrot gar nicht, das Neublau stark anziehen. Die Kerne dagegen, die zu beiden Farben Affinität besitzen, färben sich violett, und zwar mit einem Rotstich (rotviolett), weil die Mischung absichtlich viel mehr Neutralrot als Neublau enthält. Wie man bei einem Vergleiche mit der vierten Reihe sieht, färbt die Mischung von Neublau und Neutralrot zu gleichen Teilen die Kerne nicht rotviolett, sondern blauviolett (neben dunkelblauen Muskeln), womit der bei der NV.-Färbung sinnfällige Kontrast zwischen Sauerstofforten und Reduktionsorten aufgehoben ist. Die Extraktion der mit beiden Mischungen gefärbten Schnitte mittels Wasser und Alkohol ergibt, wie die beiden unteren Reihen zeigen, nur blau gefärbte Präparate, da (s. zweite Reihe) Neutralrot vollkommen ausgezogen ist, Neublau aber sowohl von den Muskeln wie von den Kernen festgehalten wird. Jedes längere Verweilen der Schnitte in Wasser oder Alkohol beeinträchtigt also die Farbkontraste erheblich, weil das Rot wegfällt. Da aber die Behandlung mit Wasser und Alkohol nicht ganz auszuschließen ist, muß das Neutralrot von vornherein im Überschuß in der Mischung vorhanden sein.

Es ergibt sich aus diesen Versuchen, daß die wichtigste Rolle beim Zustandekommen eines guten Kontrastes bei dieser Mischung die Reduktionsempfindlichkeit des Neutralrots ist. Eine Verbesserung der Farbmischung wäre nur denkbar, wenn es gelänge, eine ebenso reduktionsempfindliche basische Farbe zu finden, die weniger alkohollöslich wäre und da-

her nicht im Überschuß vorhanden zu sein brauchte, und wenn man andrerseits eine Kontrastfarbe ähnlich dem Neublau fände, die oxydationsempfindlich und daher ohne Affinität für Kerne wäre. Man sieht aber weiter hieraus, daß auch ohne solche „ideal" kontrastierende Farben bereits sehr lehrreiche Färbungskontraste mit annähernd guten Farbmischungen zu erzielen sind, wenn die Mengenverhältnisse nur passend gewählt werden.

Das normale Bild des Herzmuskels.

Bei der NV.-Färbung des Herzmuskels (1)[1]) hat man, von den übrigen Elementen wie größeren Gefäßen und Nerven abgesehen, tinktoriell 5 verschiedene Elemente vergleichsweise ins Auge zu fassen:

1. Dunkelblaue Muskelbündel.
2. Graublaue längliche Muskelkerne.
3. Blauviolette kleine Capillarkerne.
4. Rotviolette Bindegewebskerne.
5. Rotes Bindegewebe.

So stellt sich der Herzmuskel dar, wenn man denselben unmittelbar oder kurz in Wasser abgespült in Gefrierschnitte zerlegt und mit NV. färbt.

Bringt man das Stück erst über Watte auf mehrere (bis 6) Stunden in destilliertes Wasser unter mehrmaligem Wechsel desselben, so ändert sich das Farbenbild erheblich. Man hat jetzt:

1. Hell blaugrüne Muskelbündel, maceriert.
2. Blaugraue Muskelkerne.
3. Violettgraue Capillarkerne.
4. Blauviolette Bindegewebskerne.
5. Helles, nahezu farbloses Bindegewebe.

Außerdem findet sich meistens noch an der Außenseite des Schnittes ein äußerst schmaler, ganz ausgewaschener Rahmen, in dem die Muskelfasern hell, die Muskelkerne violettgrau gefärbt sind. Das veränderte Bild des ganzen Muskel-

[1]) Die eingeklammerten Zahlen und Buchstaben beziehen sich auf die Figuren der Tafel. Um alle Figuren auf eine Tafel zu bringen, mußte die Vergrößerung so schwach genommen werden, daß sich bei Besichtigung der Bilder der Gebrauch einer Lupe empfiehlt.

schnittes erklärt sich durch den Verlust von flüssigem Eiweiß beim Auswaschen; es ist dadurch viel Blau dem Muskel verloren gegangen, dem Bindegewebe aber auch das meiste Rot. Der ganze blasse, schmale äußere Rahmen erklärt sich dadurch, daß hier außer dem flüssigen Eiweiß auch fast alles feste, sonst sich blaufärbende Muskeleiweiß (Myosin) ausgezogen ist. Erfahrungsgemäß gehört hierzu eine Auswaschung von mehreren Stunden.

Rahmenbildende Stoffe.

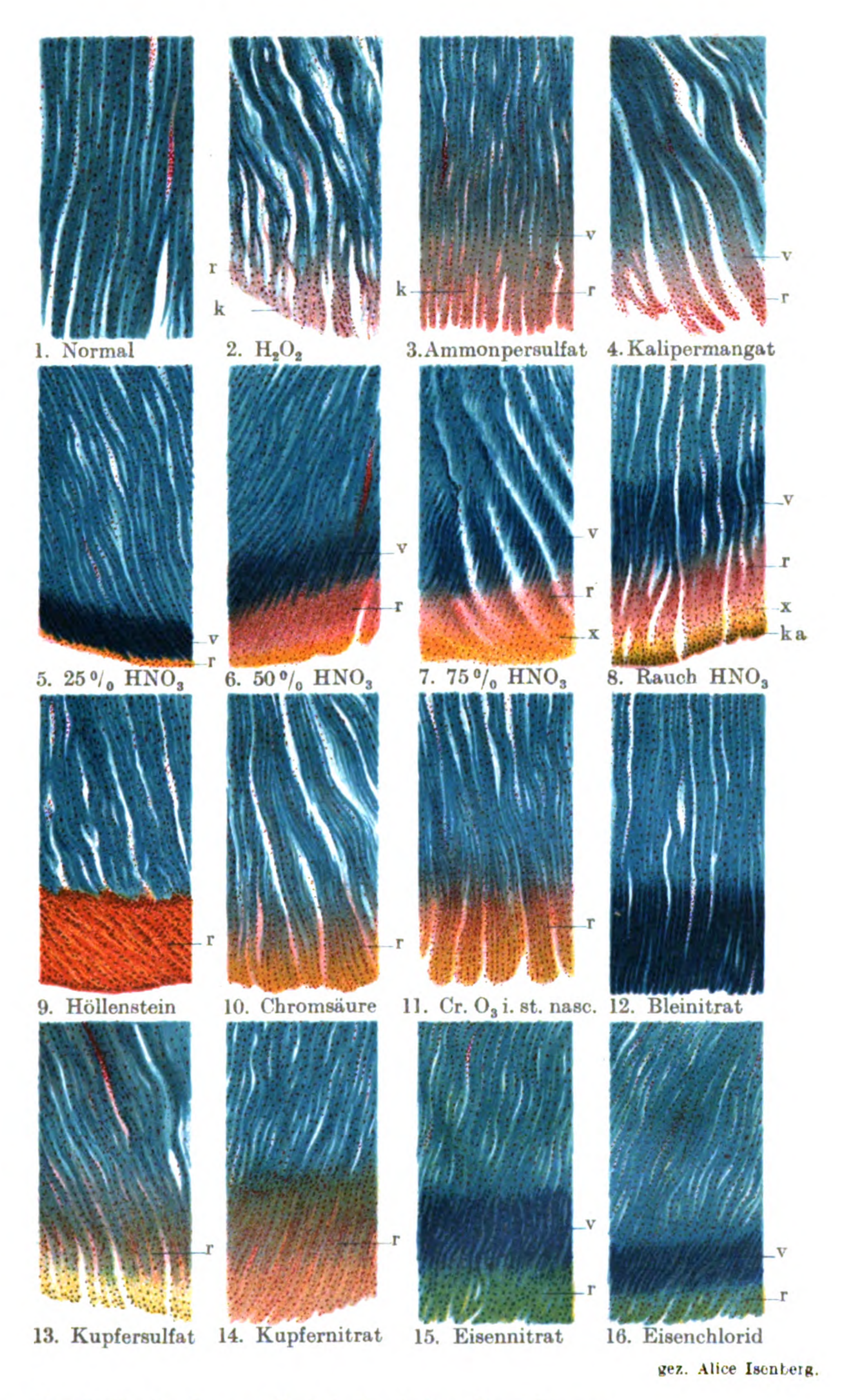
Ich lasse nun die Besprechung der einzelnen zu den Versuchen gebrauchten Mittel folgen und teile sie der besseren Übersicht halber in 5 Gruppen ein:

Gruppe I: Wasserstoffsuperoxyd, Ammonpersulfat, Kalipermanganat.
Gruppe II: Salpetersäure, rauchende Salpetersäure, Höllenstein.
Gruppe III: Chromsäure, Kaliumdichromat, Kaliumdichromat + Schwefelsäure, Schwefelsäure.
Gruppe IV: Zinksulfat, Kupfersulfat, Kupfernitrat, Bleinitrat.
Gruppe V: Eisennitrat, Eisenacetat, Salzsäure, Eisenchlorid.

Gruppe I:

	Perhydrol	Ammonpersulfat		Kalipermanganat	
	Rahmen	Rahmen	Vorrahmen	Rahmen	Vorrahmen
Muskelbündel . .	farblos	grau-rötlich	graublau	rötlich	bläulich
Muskelkerne . . .	violett	dunkelrot	rotviolett	dunkelrot	schwach violett
Capillarkerne . . .	violett	dunkelrot	rot	dunkelrot	violett
Bindegewebskerne .	violett	dunkelrot	rot	dunkelrot	violett
Bindegewebe . . .	farblos	farblos	farblos	farblos	farblos

Als Vertreter der einfachen Oxydation wählte ich Perhydrol und zwei oxydierende Salze, von denen eines saurer Natur ist (Ammonpersulfat) und eins basischer (Kalipermanganat).



1. Normal 2. H_2O_2 3. Ammonpersulfat 4. Kalipermangat 5. 25 % HNO_3 6. 50 % HNO_3 7. 75 % HNO_3 8. Rauch HNO_3 9. Höllenstein 10. Chromsäure 11. Cr. O_3 i. st. nasc. 12. Bleinitrat 13. Kupfersulfat 14. Kupfernitrat 15. Eisennitrat 16. Eisenchlorid

gez. Alice Isenberg.

Unna, Die Rolle des Sauerstoffs bei chemischen Einwirkungen auf das tierische Gewebe.

Verlag von Julius Springer in Berlin.

Wasserstoffsuperoxyd (2) erwies sich rahmenbildend erst bei der Konzentration des Perhydrols (33 %), während selbst die 10%ige und 20%ige Lösung sich anscheinend nicht vom Wasser in ihrer Wirkung auf die NV.-Färbung unterschied. Im reinen Perhydrol Merck färbte sich das Stück Herzfleisch makroskopisch kreideweiß unter fortgesetzter Sauerstoffentwicklung. Nach einer halben Stunde, als die letztere noch nicht beendigt war, wurde das Stück in Wasser abgespült und sofort gefriergeschnitten. Wie die folgende Tabelle zeigt, hatte sich unter dem Einfluß des Perhydrols ein Rahmen (2 r) gebildet, innerhalb dessen die Muskelfasern bei der NV.-Färbung vollständig farblos blieben und nur noch sämtliche Arten der Kerne (k) violett gefärbt wurden. Dabei erschienen die Muskelbündel in ihrer Gestalt verändert, stark maceriert und in Büschel dünner Längsfasern verwandelt. Wie die Muskeln ihr Blau, so hatte das sie umhüllende Bindegewebe sein Rot verloren, und nur die Kerne hatten ihr Rot und Blau (Violett) behalten. Es ist begreiflich, daß die starke Oxydation durch Perhydrol vorzugsweise die stark reduzierende Muskelsubstanz angreift und die Sauerstofforte der Kerne schont. In diesen wurde daher sowohl etwas Blau wie alles Rot bei der NV.-Färbung gebunden.

In einer 10%igen Lösung von Ammonpersulfat (3) kam es nach einer Viertelstunde[1]) zur Rahmenbildung, welche (durch die fast völlige Auslöschung des Blaus im Rahmen [r] [s. Tabelle Gruppe I] und die ausgezeichnete Erhaltung, ja Verstärkung des Rots in den verschiedenen Kernen [k]) die starke Oxydation durch dieses Salz anzeigt. Daß diese Abweisung des Neublaus aus dem NV. wirklich bei Ammonpersulfat

$$\begin{array}{l} O - SO_3NH_4 \\ | \\ O - SO_3NH_4 \end{array}$$

allein auf die Oxydation durch den Peroxyd-Sauerstoff zurückzuführen ist, ergibt sich mit absoluter Sicherheit durch einen Vergleich mit der entsprechenden Einwirkung einer 10%igen Lösung von Ammonsulfat

[1]) Nachdem dasselbe Herz einen Tag auf Eis gelagert hatte, bedurfte es zur Rahmenbildung der Einwirkung einer 20%igen Ammonpersulfatlösung während einer Stunde (postmortale Reduktion).

$$SO_4 \langle {NH_4 \atop NH_4},$$

die gar keine Rahmenbildung erzeugt.

Bei der Einwirkung des Ammonpersulfats tritt aber noch eine weitere Erscheinung auf, die sich bei vielen anderen Rahmen, aber durchaus nicht bei allen wiederholt. Ich will dieselbe als Vorrahmen (v) bezeichnen, da sie sich vor dem eigentlichen Rahmen, zwischen diesem und der unveränderten Mitte des Schnittes befindet. Dieser Vorrahmen ist bei Ammonpersulfat ausgezeichnet durch einen höheren Gehalt an Blau. Die Muskelbündel sind graublau (statt graurötlich wie im Rahmen) und die Muskelkerne rotviolett (statt dunkelrot). Dieses Mehr an Blau genügt schon, um den Vorrahmen von der unveränderten Mitte gut zu unterscheiden. Aber der Übergang zur Mitte ist ein allmählicher, während zwischen Vorrahmen und dem nach außen folgenden Rahmen eine scharfe linienförmige Grenze besteht. Diese scharfe Grenze zwischen Rahmen und Vorrahmen findet sich bei allen Vorrahmen und hängt damit zusammen, daß der Vorrahmen nach außen an Farbstärke, also an Blau zunimmt, bis die Farbe an der Grenze des Rahmens plötzlich in eine ganz andere Färbung umschlägt. Aus dieser Zunahme des Blaus bis zur Grenze des Rahmens hin läßt sich ein Schluß ziehen auf die Entstehung des eigentümlichen Vorrahmens überhaupt. Es kann wohl keinem Zweifel unterliegen, daß derselbe dadurch entsteht, daß aus der Mitte des Stückes heraus die alkalische, reduzierende Gewebsflüssigkeit gegen den Rahmen zufließt, um hier das eingedrungene Oxydationsmittel zu neutralisieren. So würde sich einfach die stärkere Blaufärbung des Vorrahmens gegen die Grenze des Rahmens zu erklären und auch nur so die scharfe Grenzlinie zwischen beiden Gebieten. Denn eine solche findet nur statt zwischen zwei verschieden gefärbten Flüssigkeiten. Würde die Grenze des Rahmens erzeugt durch Eindringen einer chemisch differenten Flüssigkeit in ein trockenes Gewebe, so würde die Grenze unregelmäßig vorspringen, abhängig von den einzelnen Gewebselementen. Das Auftreten eines Vorrahmens ist also immer ein Beweis, daß zwischen der eindringenden chemisch differenten Flüssigkeit und dem Gewebssaft eine chemotaktische Anziehung stattgefunden hat und der Unterschied zwischen

Ammonsulfat und Ammonpersulfat lehrt, daß eine solche chemotaktische Anziehung bereits durch ein oxydierendes Ion in Gang gesetzt werden kann.

Kalipermanganat (4) wirkte 20 Minuten lang in 1%iger Lösung auf den Herzmuskel ein; das braun gewordene Gewebsstück wurde gut abgespült und gefriergeschnitten. Die Schnitte kamen dann eine kurze Zeit in 10%ige Oxalsäurelösung, bis zur vollständigen Entfernung des braunen Mangandioxyds und wurden vor der Färbung in NV. noch einmal in Wasser kurz abgespült.

Wie die Tabelle (Gruppe I) lehrt, ist im Rahmen des Kalipermanganats (r) alles Blau verschwunden, die Muskelbündel färben sich mit NV. rötlich, die sämtlichen Kerne dunkelrot. Auch hier existiert, und offenbar aus denselben Gründen, ein Vorrahmen (v), der gegenüber dem Rahmen trotz der Behandlung mit Oxalsäure noch etwas Blau behalten hat; die Muskelbündel sind bläulich (nicht rötlich wie im Rahmen), die Kerne violett (nicht dunkelrot).

Hier ist die Entstehung des Rahmens sowohl wie des Vorrahmens lediglich, wie beim Perhydrol, durch freiwerdenden Sauerstoff bedingt:

$$2\,KMnO_4 + 2\,H_2O = 2\,MnO_2 + 2\,KOH + 3\,O$$

Kalipermanganat + Wasser = Mangandioxyd + Kalilauge + Sauerstoff.

1 Molekül Kaliumpermanganat liefert also 3 Atome freien Sauerstoffs, woraus sich die höchst energische Oxydationswirkung erklärt. Beim Abspülen des Stückes verschwindet auch die dabei gebildete Kalilauge, so daß die auf die Schnitte angewandte Oxalsäure nur noch Mangandioxyd im Gewebe vorfindet, das sie reduziert und nach folgender Gleichung in das lösliche Manganocarbonat verwandelt:

$$MnO_2 + C_2H_2O_4 = MnCO_3 + CO_2 + H_2O$$

Mangandioxyd + Oxalsäure = Manganocarbonat + Kohlensäure + Wasser

In der Gruppe der Salpetersäure ist hauptsächlich ein großer Unterschied in der Wirkung der verschiedenen Konzentrationen bemerkenswert. Die 25%ige Säure (5) dringt nur äußerst wenig in die Muskelsubstanz ein. Dieselbe wird dadurch nicht unfärbbar gemacht, sondern gewinnt durch den gleichzeitigen Anprall der Salpetersäure von außen und eines

Gruppe II.

	25 % Salpetersäure	50 % Salpetersäure		75 % Salpetersäure		100 % Salpetersäure (rauchende Salpetersäure)			40 % Höllenstein
	Vorrahmen	Rahmen	Vorrahmen	Rahmen	Vorrahmen	Gelber Rahmen	Roter Rahmen	Blauer Vorrahmen	Orange Rahmen
Muskelbündel . .	dunkelblau	gelb, rötlichgelb	dunkelblau	gelb, rötlich	dunkelblau	gelbbraun	gelbrot, violettrot	dunkelblau	orange
Muskelkerne . .	sämtlich vergrößert und dunkelviolett	rot	violett	rot	dunkelviolett	braun	dunkelrot	dunkelviol., vergrößert	rotbraun
Capillarkerne . .		rot	dunkelviolett	rot	dunkelviolett	braun	dunkelrot	dunkelviolett	rotbraun
Bindegewebskerne		rot	dunkelviolett	rot	dunkelviolett	braun	dunkelrot	dunkelviolett	rotbraun
Bindegewebe . .	hellrötlich	farblos	farblos	farblos	farblos	braun	rot	farblos	gelb

Stromes von Muskellymphe von innen eine dunkelblaue Färbung. Dieser schmale dunkelblaue Rahmen, der wegen des Vorherrschens des blaugefärbten Albumins besser die Bezeichnung: Vorrahmen (v) trägt, hat an seiner Außenseite stets noch eine hellgelbe Kante mit roten Kernen, welche die Salpetersäurewirkung charakterisiert und das Minimum eines eigentlichen Rahmens (r) darstellt.

Die 50%ige Salpetersäure (6) zeigt bereits einen breiten deutlichen Rahmen (r), zum Zeichen, daß bei dieser Konzentration die Säure weit in das Muskelgewebe eindringt. Der Rahmen wechselt etwas in der Färbung der Muskelfasern von gelb außen bis rötlichgelb innen, während die Kerne rot erscheinen. Innen von diesem Rahmen befindet sich ein ebenso breiter Vorrahmen (v) mit dunkelblauen Muskeln und dunkelvioletten Kernen.

Die 75%ige Sal-

petersäure (7) erzeugt dasselbe Bild in noch schärferer Ausprägung. Die Teilung des Rahmens in einen äußeren gelben und inneren rötlichen Bezirk wird noch deutlicher, so daß man schon hier von 2 Rahmen, einem äußeren gelben (x) und inneren rötlichen (r) sprechen könnte. Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß der äußere gelbe Bezirk das Xanthoproteinprodukt der Muskelsubstanz darstellt. Er geht allmählich in den inneren rötlichen über, in den die Salpetersäure ebenfalls eingedrungen ist, ohne es hier zur Bildung von Xanthoprotein zu bringen.

In nahezu 100%iger, rauchender Salpetersäure (8) entsteht schon in 30 Sekunden ein Rahmen, der in NV. sich prachtvoll polychrom färbt und in drei scharf getrennte und verschieden gefärbte Zonen zerfällt. Man kann hier sehr wohl zwei getrennte Rahmen, einen gelben (x) und einen roten (r) außer dem dunkelblauen Vorrahmen (v) unterscheiden, die sich wiederum scharf von der heller blauen Mitte abheben.

Die gelbe Farbe des Rahmens mit gelbbraunen Muskelbündeln, braunen Kernen und einer bräunlichen Kante (ka) mit braunen Kernen kennzeichnet auch hier offenbar die Bildung von Xanthoprotein, während die beim Vordringen abgeschwächte Salpetersäure es nur zur Bildung des roten Rahmens bringt.

Auch in diesen inneren Rahmen ist offenbar die Salpetersäure noch eingedrungen und hat sich hier mit dem von innen angelockten Albuminstrom derart ausgeglichen, daß an der äußeren Kante dieses inneren Rahmens die Muskelbündel gelbrot, an der inneren Kante violettrot gefärbt sind.

Hier setzt der Vorrahmen (v) gleich mit tiefblauer Farbe der Muskelbündel ein, während die Kerne derselben das normale Violett zeigen, aber — wohl als Folge der Saftstauung — größer und dunkler als normal erscheinen. In diesen Vorrahmen ist also die Salpetersäure nicht eingedrungen; er zeichnet sich nur durch einen besonders kräftigen Gegenstrom der Muskellymphe aus.

Höllenstein (9) in starker Prozentuierung (40%) bildet schon in 2 Minuten einen kräftigen orangefarbenen Rahmen (r) mit rotbraunen Kernen und gelbem Bindegewebe. Das Blau ist vollkommen verschwunden und nur das Rot in den Kernen

vorhanden. Gleichzeitig spielt hier aber bei der gelbroten Farbe des Rahmens die Belichtung des Silbersalzes eine Rolle, wofür ich auf die ausführliche Darstellung in meiner Arbeit über: „Die Wirkung des Höllensteins“[1]) verweise. Hier ist auch der Beweis geführt, daß die Wirkung des Höllensteins sich zusammensetzt aus der Silberwirkung und der Wirkung der oxydierenden Salpetersäure. Von den gelben Salpetersäurerahmen unterscheidet sich der Höllensteinrahmen außerdem durch die weit schärferen Konturen aller einzelnen Gewebselemente, worin auch eine Silberwirkung zu erblicken ist.

Gruppe III.

<table>
<tr><th></th><th>Chromsäure 10 %</th><th>Kaliumdichromat 10 %</th><th>Kaliumdichromat 10 % + Schwefelsäure 10 %</th><th>Schwefelsäure 25 %</th></tr>
<tr><td>Muskelbündel . .</td><td>dunkelgelb, graurötlich</td><td rowspan="5">Rahmen fehlt</td><td>dunkelgelb, rötlich</td><td rowspan="5">Rahmen fehlt, Muskeln blau, Kerne braunstichig rotviolett</td></tr>
<tr><td>Muskelkerne . . .</td><td>rotviolett</td><td>hellrot</td></tr>
<tr><td>Capillarkerne . . .</td><td>dunkelrotviolett</td><td>dunkelrot</td></tr>
<tr><td>Bindegewebskerne .</td><td>rotviolett</td><td>dunkelrot</td></tr>
<tr><td>Bindegewebe . . .</td><td>farblos</td><td>farblos</td></tr>
</table>

Die 10 %ige Chromsäure (10) bildet einen außen dunkelgelben, innen graurötlichen Rahmen (r), ähnlich wie die rauchende Salpetersäure, auch hier charakterisiert durch das gänzliche Fehlen des Blaus in den Muskeln und das Erhaltenbleiben des Rots in den Kernen. Man könnte hier von einem Xantho-Chromoprotein reden.

Die 10 %ige Lösung von Kaliumchromat und die von Kaliumdichromat erzeugt keinen Rahmen, der durch NV. sichtbar zu machen ist. Versetzt man aber eine 10 %ige Lösung von Kaliumdichromat mit einer 10 %igen Lösung von Schwefelsäure (11), so entsteht Chromtrioxyd, das „Acidum chromicum“ der Apotheker neben Kalisulfat:

$$K_2Cr_2O_7 + H_2SO_4 = K_2SO_4 + 2\,CrO_3 + H_2O$$

Kaliumdichromat + Schwefelsäure = Kaliumsulfat + Chromtrioxyd + Wasser

[1]) Teil II. Dermatolog. Wochenschr. **68**, Heft 41 bis 43.

Diese Mischung erzeugt einen fast gleichen, aber breiteren Rahmen wie die freie Chromsäure, nur ist auch aus den Kernen das Blau vollständig geschwunden, sie sind rein rot. Der Rahmen erscheint daher außen dunkelgelb, innen rötlich. Die stärkere Wirkung der Mischung ist wohl auf die Chromsäure in statu nascendi zu schieben. Die Gegenwart der Schwefelsäure hat daran keinen Anteil. Denn wie Tabelle Gruppe III zeigt, bildet sogar die 25 °/₀ ige Schwefelsäure allein für sich keinen Rahmen. Die Muskeln färben sich in normaler Weise blau und die Kerne rotviolett an dem mit Schwefelsäure behandelten Muskelstück. Der braune Stich der rotvioletten Kerne beruht wohl auf der wasseranziehenden Eigenschaft der Schwefelsäure.

Die Tabelle zeigt sehr übersichtlich, daß nur die oxydierende Chromsäure die Aufnahmefähigkeit des Muskels für Neublau vernichtet, weder die Schwefelsäure allein noch das Chromsalz.

Gruppe IV.

	Zinksulfat gesättigt	Kupfersulfat gesättigt	Kupfernitrat gesättigt	Bleinitrat gesättigt
Muskelbündel . .	Rahmen fehlt, Muskel grünlichblau, Kerne blauviolett	gelbgrau	gelbrötlich, graurötlich	Rahmen fehlt, Muskel dunkelblau, Kerne blauschwarz
Muskelkerne . .		braun	rot	
Capillarkerne . .		braun	rot	
Bindegewebskerne		braun	rot	
Bindegewebe . .		gelblich	farblos	

Diese Gruppe enthält vier Metallsalze, die so gewählt sind, daß daraus auf die Beteiligung der Metallionen an der Rahmengebung Schlüsse gezogen werden können. Im Gegensatz zu den bisherigen Versuchen, in denen die behandelten Muskelstücke nur kurz in fließendem Wasser abgespült wurden, mußten die folgenden nach der Behandlung mit Metallsalzen, um Niederschläge zu vermeiden, sorgfältig und lange (wenigstens $^1/_2$ Stunde) über Watte ausgewaschen werden.

Das auffallendste Ergebnis dieser Tabelle ist die Verschiedenheit der Kupfersalze von dem Blei- und Zinksalz bei 10 Minuten langer Einwirkung. Die letzteren bilden keinen Rahmen, wohl aber die Kupfersalze. Zinksulfat sowohl wie Bleinitrat

zeigen wohl eine veränderte NV.-Färbung, haben also einen Einfluß auf den Chemismus des ganzen Muskelstückes ausgeübt, obwohl sie keinen Rahmen gebildet haben, also nicht in das Stück eingedrungen sind. Die veränderte Färbung äußert sich beim Zinksulfat in einer grünlichblauen Tönung der Muskeln und blauvioletter Färbung der (normalerweise rotvioletten) Kerne. Noch mehr Blau ist gespeichert in dem mit Bleinitrat (12) behandelten Stück, in dem die Muskeln eine dunkelblaue, die Kerne geradezu eine blauschwarze Färbung annehmen. In beiden Fällen verschwindet das Rot völlig, scheint aber nur vom intensiven Blau verdeckt zu sein. Hiernach besteht die Wirkung des Zink- und Bleisalzes offenbar in einer Zurückhaltung des flüssigen Albumins, welches das Neublau speichert, und zwar in einer Fällung und Fixierung desselben, da es durch Wasser beim Bleinitrat gar nicht, beim Zinksulfat nur aus den Muskelbündeln etwas ausgewaschen wird. Bleinitrat (12) gibt mithin Anlaß zu einer auffallenden Farbenveränderung an der Außenseite, die als Vorrahmen bezeichnet werden könnte, wenn sich ein Rahmen gebildet hätte.

Ganz anders verhalten sich die Kupfersalze. Diese dringen in die Muskelsubstanz selbst unter Rahmenbildung (r) ein. Am energischsten wirkt das Kupfersulfat (13), indem es nicht nur die Affinität für das Blau, sondern auch die für das Rot der Kerne fast völlig vernichtet: Die Muskeln sind außen gelb, innen gelblichgrau, die Kerne braun.

Das Kupfernitrat (14) erzeugt durch tiefes Eindringen einen sehr breiten, außen gelbrötlichen, innen graurötlichen Rahmen (r), in dem alles Blau verschwunden ist, das Rot aber, besonders in den Kernen, geschont wird. Es besteht mithin ein Unterschied zwischen den beiden Kupfersalzen, der nicht auf das Metallion, sondern nur auf das Säureion zu schieben ist, und zwar ist es die oxydierende Salpetersäure im Kupfernitrat, welche die Affinität der Kerne für Neutralrot schont.

Andrerseits beleuchtet der Gegensatz zwischen Kupfernitrat und Bleinitrat die notwendigen Voraussetzungen der Rahmenbildung. Wir haben gesehen, daß die freie Salpetersäure erst bei sehr starker Prozentuierung Rahmen bildet. Hier finden wir eine Verschiedenheit in der mit dem Metall verbundenen Salpetersäure, die das Eindringen und die Rahmen-

bildung durch dieselbe als Ausnahme erscheinen läßt, denn das Bleinitrat dringt nicht ein und bildet keinen Rahmen, ja es hält das flüssige Eiweiß sogar beim Auswaschen zurück im Gegensatz zum Wasser. Ebensowenig rahmenbildend sind andere Metallnitrate, wie Quecksilbernitrat und Urannitrat. Dagegen sind Kupfernitrat und Silbernitrat im höchsten Grade rahmenbildend, und ihnen schließt sich noch Eisennitrat (s. nächste Tabelle) an. Diese Eigenschaft haftet also an besonderen Metallionen, welche Neigung haben zur Bindung des reduzierenden Gewebes (hier Muskelsubstanz) und damit die spätere Färbung desselben mit Neublau verhindern. Das Kupfersulfat zeigt, daß die Bindung des Kupferions an Salpetersäure hierfür nicht notwendig ist. Im Gegenteile, es bindet Kupfersulfat mehr Gewebssubstanz als Kupfernitrat, da es die Kerne nicht wie dieses schont, sondern ebenfalls bindet und für die Vereinigung mit Neutralrot unbrauchbar macht.

Da nun die freie Schwefelsäure, wie wir gesehen haben (s. Tabelle Gruppe III), für sich keinen Rahmen bildet, so ist es im Kupfersulfat allein das Kupferion, dem die rahmenbildende Eigenschaft zukommt. Daß diese Kupferwirkung noch durch eine oxydierende Säure, wie Salpetersäure, verstärkt wird, sehen wir am Vergleiche der beiden Kupferrahmen, von denen der des Kupfernitrats in derselben Zeitdauer wesentlich breiter ausfällt, als der des Kupfersulfats. Wird die Salpetersäure aber an das Bleiion gebunden, so wird die rahmenbildende Kraft der Salpetersäure ganz aufgehoben; das Bleinitrat fixiert den Gewebssaft im Gewebe, dringt aber selbst nicht in dasselbe hinein.

Die hier nur an wenigen Säuren und Metallen kurz skizzierten Unterschiede in der Rahmenbildung lassen immerhin schon ein allgemeines Gesetz erkennen, dessen genauere Durcharbeitung mit Hülfe der NV.-Färbung von Interesse sein dürfte. Es besagt, daß nur ganz bestimmte Säure- und Metallionen an der Rahmenbildung aktiv beteiligt sind, einerseits solche Säuren wie Salpetersäure und Chromsäure, andrerseits solche Metalle wie Silber, Kupfer und Eisen; mit anderen Worten solche Stoffe und Verbindungen, die als Sauerstoffträger angesprochen werden können und sich nach dem Gesetz der oxypolaren Verwandtschaft mit großer Energie auf die reduzierende Masse des tierischen Gewebes stürzen, während sie die sauerstoffhaltigen

Kerne verschonen. Daher löschen diese stark eindringenden, beziehentlich vom reduzierenden Gewebe stark angezogenen Stoffe das Blau der NV.-Färbung und lassen nur das Rot derselben zur Wirkung kommen.

Wenn man sieht, daß so starke Säuren mit so energisch wirkenden Ionen wie Schwefelsäure und Salzsäure (siehe nächste Tabelle) mit dem Gewebe keinen Rahmen bilden, wohl aber die als Säuren nicht stärkere Chromsäure und Salpetersäure, so liegt die rahmenbildende Kraft nicht in der Affinität dieser Säuren zu den basischen Eiweißen, sondern in der Affinität ihres Sauerstoffs zum reduzierenden Gewebseiweiß. Diese Schlüsse erfahren eine willkommene Bestätigung durch die anfangs mitgeteilten Tatsachen der Rahmenbildung allein durch den frei werdenden Sauerstoff des Perhydrols und des Kalipermanganats sowie durch den Peroxydsauerstoff des Ammonpersulfats.

Gruppe V.

<table>
<tr><th rowspan="2"></th><th rowspan="2">Eisen-acetat</th><th colspan="2">Eisennitrat</th><th rowspan="2">Salz-säure 25%</th><th colspan="2">Eisenchlorid</th></tr>
<tr><th>Rahmen</th><th>Vor-rahmen</th><th>Rahmen</th><th>Vor-rahmen</th></tr>
<tr><td>Muskel-bündel</td><td rowspan="5">Rahmen fehlt, Muskeln blau, Kerne blauviolett</td><td>grün</td><td>dunkel-blau</td><td rowspan="5">Rahmen fehlt, Muskeln blau, Kerne rotviolett</td><td>blaugrün</td><td>blau</td></tr>
<tr><td>Muskel-kerne</td><td>schwarz-blau</td><td>schwarz-blau</td><td rowspan="3">dunkel-violett</td><td rowspan="3">dunkel-violett</td></tr>
<tr><td>Capillar-kerne</td><td>schwarz-blau</td><td>schwarz-blau</td></tr>
<tr><td>Bindege-webskerne</td><td>schwarz-blau</td><td>schwarz-blau</td></tr>
<tr><td>Binde-gewebe</td><td>farblos</td><td>farblos</td><td>farblos</td><td>farblos</td></tr>
</table>

Die Eisenverbindungen, die in dieser fünften Gruppe zusammengefaßt sind, lassen eine Reihe von Tatsachen erkennen, die die letzten Schlußfolgerungen in befriedigendster Weise bestätigen. Daß Eisenacetat keinen Rahmen bildet, ist nicht auffällig. Obwohl das Eisenion eine gewisse Neigung zur Rahmenbildung besitzt, wird dieselbe durch die Bindung an Essigsäure völlig aufgehoben. Wir haben beim Bleinitrat bereits eine derartige Neutralisierung — dort eine solche der Salpetersäure durch das Metall — kennen gelernt.

Dagegen tritt die Rahmenbildung bei zwei anderen Eisen-

salzen auf, die so ausgewählt sind, daß der einen mit dem Eisen verbundenen Säure (HNO_3) eine Neigung zur Rahmenbildung anhaftet (Eisennitrat), die der anderen (HCl) abgeht (Eisenchlorid). Das Eisennitrat (15) bildet einen grünen Rahmen (r), soweit es selbst eingedrungen ist, und dann einen dunkelblauen, scharf kontrastierenden Vorrahmen (v). Man könnte bei diesem starken Gegensatz zunächst daran denken, daß das Eisennitrat als Ganzes so weit eingedrungen sei, wie die grüne Farbe reicht, und daß die dann folgende dunkelblaue Zone von einer Abspaltung der Säure aus dem Eisensalze herrühre, daß also auf den Eisensalzrahmen ein einfacher „Säurerahmen" folge. Und man könnte die allgemeine Erfahrung dafür anführen, daß Säurevorbehandlung das Neublau auf der Muskelsubstanz verstärkt. Aber dem widerspricht, daß gerade bei der Salpetersäure, um deren Abspaltung es sich hier handeln würde, die Kerne sämtlich dunkelrot bleiben, während sie hier schwarzblau sind. Diese Färbung wird dagegen verständlich durch die Annahme der Erzeugung eines Vorrahmens, wobei das flüssige, reduzierende Eiweiß dem eindringenden oxydierenden Eisensalz entgegenströmt. Dadurch erscheinen sogar die Kerne dieser „Stauungszone" blau statt rot bis zur Grenze des eingedrungenen Eisensalzes.

Gegen die Annahme eines „Säurerahmens", die sich auf die zweite Annahme der Spaltung des Metallsalzes im Gewebe stützen müßte, sprechen weiter auch alle Erfahrungen, die ich bei den analogen Höllensteinätzungen machte. Hier mußte ich die vorläufige Hypothese, daß im toten Gewebe der eingedrungene Höllenstein sich in Metall und Säure trennt, aufgeben, da die freie Säure eben nicht nachzuweisen war. Im Gegensatz dazu stellte sich aber heraus, daß beim Lebenden eine solche Abspaltung tatsächlich besteht und eine wichtige Rolle spielt, daß diese aber die Überschwemmung des Gewebes mit transsudiertem Serum zur Voraussetzung hat.

In der Tabelle folgt die starke 25 %ige Salzsäure, um noch einmal darauf hinzuweisen, daß diese nicht oxydierende Säure allein zur Rahmenbildung unfähig ist. Die Schnitte färben sich nach Behandlung des Herzmuskels mit dieser starken Säure wie normale Schnitte, die Muskelsubstanz blau, die Kerne rotviolett. Wenn demnach das nun folgende Eisen-

chlorid (16) einen Rahmen bildet, so verdankt es diese Eigenschaft lediglich dem Eisen, von dem man annehmen muß, daß es in dieser Verbindung nur nicht, wie beim Eisenacetat, an seiner rahmenbildenden Kraft gehindert ist. Es würde sich also dem Kupfersulfat anschließen, in dem auch das stark vom Gewebe angezogene Metallion die Säure mitnimmt.

Das Eisenchlorid bildet ebenfalls einen etwas schmäleren, sonst ebenso gefärbten Rahmen (r) und Vorrahmen (v), immer der beste Beweis für die dabei waltende chemotaktische Anziehung zwischen dem oxydierenden Eisensalz und dem reduzierenden Gewebesaft. Im Rahmen sind die Muskeln blaugrün gefärbt, die Kerne dunkelviolett; im Vorrahmen die Kerne auch dunkelviolett, die Muskeln aber blau. Der Unterschied der Kerne im Rahmen und Vorrahmen beim Eisenchlorid ist also nicht so bedeutend wie beim Eisennitrat.

Die Grenzen von Rahmen und Vorrahmen kann man bei allen eindringenden Eisensalzen und nur bei diesen auch sehr schön durch eine Tanninbeize der Schnitte nachweisen, die das Eisensalz, soweit es eingedrungen ist, im Schnitte schwarz färbt.

Ergebnisse.

Es hat sich gezeigt, daß sowohl freier Sauerstoff wie Sauerstoff in gebundener, aber aktiver Form die chemische Einwirkung der verschiedensten Stoffe auf frisches Muskelgewebe wesentlich beeinflußt. Diese Wirkung tritt in vielen Fällen, namentlich bei rauchender Salpetersäure und Chromsäure, so rasch auf, daß das Eindringen des Fremdkörpers in das Gewebe nicht als eine physikalisch bedingte Diffusionserscheinung, sondern nur als ein durch chemische Affinität bedingter Neutralisationsvorgang aufgefaßt werden kann. Dieses energische Eindringen chemisch differenter Substanzen erzeugt am Gefrierschnitt das Bild eines mehr oder minder breiten Rahmens, dessen Histochemie sich durch die NV.-Färbung analysieren läßt.

Am beweisendsten für die wesentliche Rolle des Sauerstoffs bei diesem Vorgange sind solche Stoffe, die nach Verlust ihres aktiven Sauerstoffs keinen Rahmen mehr zu bilden vermögen, wie Wasser im Vergleich mit Perhydrol, Ammonsulfat im Gegensatz zu Ammonpersulfat.

Viele Rahmenbildner erzeugen gleichzeitig mit dem Rahmen einen zwischen diesem und dem Gewebsrest gelegenen Vorrahmen, der sich durch das Überwiegen des Blaus, durch die Speicherung von Neublau auszeichnet und auf einer Anstauung von reduzierendem Albumin vor der Grenze der eindringenden Substanz beruht.

Die Stoffe der Salpetersäuregruppe erzeugen intensive Rahmen und Vorrahmen in um so höherem Grade, je konzentrierter sie sind.

Die Kalichromate bilden keinen solchen Rahmen wie die Chromsäure, dagegen sofort beim Zusatz von Schwefelsäure, die selbst auch keinen Rahmen erzeugt, aber die rahmenbildende Chromsäure abscheidet.

Die Kupfersalze (Sulfat und Nitrat) bilden Rahmen wie Silbernitrat, Eisennitrat und Eisenchlorid, während Zinksulfat, Eisenacetat und die Nitrate von Blei, Quecksilber und Uran keinen Rahmen zu erzeugen imstande sind.

Die rahmenbildende Kraft der hier betrachteten Stoffe haftet mithin lediglich an ihrem Oxydationsvermögen. Diese Eigenschaft allein verbindet die sonst so verschiedenen Substanzen: Wasserstoffsuperoxyd, oxydierende Salze, oxydierende Säuren und gewisse Metalle. Die letzteren können auch in Verbindungen mit solchen Säuren wirksam werden, die an und für sich zu keiner Rahmenbildung fähig sind (Kupfersulfat, Eisenchlorid). In Verbindung mit rahmenbildenden Säuren aber steigert sich ihre rahmenbildende Energie (Eisennitrat).

Die Rahmenbildung ist der histologische Ausdruck für die Fähigkeit fremder Stoffe, in tierisches Gewebe einzudringen und sich mit demselben fest zu verbinden, z. B. mit ihrer Fähigkeit, zu ätzen. Diese Fähigkeit ist also, wie wir jetzt wissen, proportional der oxypolaren Verwandtschaft zwischen dem Gehalt der Fremdkörper an aktivem Sauerstoff einerseits und der reduzierenden Kraft des Gewebes andrerseits und beruht mithin in letzter Instanz auf diesem Gegensatze. Unterstützt wird die Kraft des Eindringens in zweiter Linie allerdings durch den Gegensatz und das Neutralisationsbestreben starker Säuren und basischer Gewebseiweiße (Albumin, Myosin).

Über die Wirkungsweise der Carboxylase.

Von

Carl Neuberg und Eduard Färber.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie, Chemische Abteilung, Berlin-Dahlem.)

Unter den Fermenten, die den Organismen zu Molekülzerkleinerungen dienen, sind zwei Gruppen zu unterscheiden: solche, die hydrolytisch spalten, und solche, die Kohlenstoffketten verkürzen. Die erste Gattung wirkt dadurch, daß durch Anlagerung der Elemente des Wassers Kohlenstoff-Sauerstoff- oder Kohlenstoff-Stickstoffbindungen gelöst werden (Typus Carbohydrasen, Proteasen). Die Tätigkeit der zweiten Klasse von Fermenten besteht in der Zertrümmerung größerer Moleküle unter Trennung von Kohlenstoff-Kohlenstoffbindungen. Weitaus die Mehrzahl der bekannten Fermente gehört in die erste Gruppe, während zur zweiten außer den wenig bekannten komplexen Enzymen des oxydativen Stoffwechsels als Hauptrepräsentant das Ferment der alkoholischen Gärung, die „Zymase“, zu zählen ist. Der einfachste Vertreter der Kohlenstoffketten kürzenden Fermente ist in der Carboxylase, dem Enzym der zuckerfreien Gärungen aufgefunden, das Brenztraubensäure und andere α-Ketosäuren in Kohlensäure und in den entsprechenden Aldehyd spaltet. Da jede Vertiefung unserer Kenntnisse gerade dieser Enzymgattung, die eine Sonderstellung in chemischer und biologischer Hinsicht einnimmt, dringend erwünscht erscheint, ist die Carboxylase in den letzten Jahren Gegenstand eingehendster Untersuchung im hiesigen Laboratorium gewesen.

Abgesehen von den nahen Beziehungen zur „Zymase“ verdient die Carboxylase Interesse durch ihre ganz besondere

Beständigkeit, die sich in der langen Haltbarkeit[1]), Widerstandskraft gegen erhöhte Temperaturen[2]), in der großen Breite ihres Wirkungsbereichs, in ihrer bemerkenswerten Unabhängigkeit von den Reaktionsverhältnissen sowie in der erheblichen Unempfindlichkeit gegen antiseptische Mittel[3]) äußert, die sonst als Enzymgifte gelten. So verträgt nach unseren Feststellungen die Carboxylase einen Wärmegrad von 70°. Sie wirkt auch bei dieser Temperatur noch und herab bis zu 10°, also während einer Spanne von 60°. Sie zerlegt freie α-Ketosäuren[4]) sowie ihre Neutralsalze[5]) und wirkt auch in Gegenwart von Basen[6]). Sie übt diese Wirkungen aus in Anwesenheit der allerverschiedensten Antiseptica organischer und anorganischer Natur, wie Fluornatrium, Sublimat, Toluol, Chloroform, Formaldehyd, Phenol nebst Thymol. Wir konnten früher zeigen, daß die Konzentration der erwähnten desinfizierenden Zusätze so hoch gewählt werden kann, daß die „Zymase" nicht mehr in Aktion tritt, während die Carboxylase noch tätig bleibt. Bei Verwendung von frischen Hefen heben bekanntlich Toluol wie Chloroform die Vergärung von Zucker auf, während die Salze der Brenztraubensäure noch zerlegt werden. Diese Unempfindlichkeit der Carboxylase gegen Chloroform und Toluol bei Einwirkung auf die Pyruvinate haben jüngst auch H. von Euler und E. Löwenhamm[7]) bestätigt. Sie setzen dieses Verhalten in Vergleich mit dem der Invertase. Es will uns aber scheinen, daß zwei so grundsätzlich verschieden wirkende Enzyme wie Invertase und Carboxylase (siehe vorher) nicht miteinander verglichen werden dürfen. Wie früher ausdrücklich ge-

---

[1]) C. Neuberg und P. Rosenthal, diese Zeitschr. **51**, 142, 1913; **61**, 174, 1914; C. Neuberg, diese Zeitschr. **71**, 3 bis 11, 1915.

[2]) C. Neuberg, diese Zeitschr. **71**, 11 bis 25, 1915.

[3]) C. Neuberg und L. Karczag, diese Zeitschr. **36**, 80, 1911; C. Neuberg und P. Rosenthal, l. c.; C. Neuberg, diese Zeitschr. **71**, 52 bis 58, 1915.

[4]) C. Neuberg und Mitarbeiter, diese Zeitschr. **36**, 68, 1911; **47**, 413, 1912; **61**, 184, 1914; **67**, 32, 1914 usw.

[5]) C. Neuberg und A. Hildesheimer, diese Zeitschr. **31**, 170, 1911; **36**, 68, 1911.

[6]) C. Neuberg, diese Zeitschr. **71**, 57, 1915.

[7]) H. Euler und E. Löwenhamm, Zeitschr. f. physiol. Chem. **97**, 279, 1916.

zeigt ist[1]), sind außerdem beide Fermentwirkungen erwartetermaßen voneinander unabhängig, und die rein äußerliche Erscheinung der Unempfindlichkeit gegen Chloroform und Toluol weisen ja die meisten typischen Enzyme auf, sie ist nichts Eigentümliches. Wichtig ist jedoch das unterschiedliche Verhalten von Carboxylase und „Zymase". Wenn man die Carboxylase als ein Teilenzym der Zymase gelten lassen will, so muß man folgern, daß durch Chloroform oder Toluol bei Verwendung von frischen Hefen nur eines der Geschehnisse oder mehrere jener Akte des Gärungsprozesses aufgehoben werden, die vor der Stufe der Brenztraubensäurespaltung liegen.

Gelegentlich ihrer erwähnten Versuche teilen Euler und Löwenhamm als eine weitere biologische Wirkung der Brenztraubensäure mit, daß eine vorbehandelnde Gärung mit Pyruvinaten eine ebensolche Vermehrung des Invertasegehaltes[2]) der untergärigen Hefe zuwegebringt wie eine vorbereitende Gärung mit Zucker. Wir möchten darauf hinweisen, daß dieses Verhalten ein sehr beachtenswertes Glied darstellt in der Kette der erkannten Beziehungen der Brenztraubensäure zum Kohlenhydratstoffwechsel[3]), wie sie für die Pyruvinate zum Ausdruck kommen in der Verwertbarkeit zur Glykogenbildung, in der Einwirkung auf die motorische Tätigkeit des überlebenden Herzens und Darmes sowie in der ganz den Kohlehydraten entsprechenden Ausnutzbarkeit von seiten der Kultur- und Kahmhefen, ferner in der jüngst von M. Jacoby[4]) festgestellten Fähigkeit, gleich den gärenden Zuckern als Bildungsmaterial des Fermentes Urease zu dienen.

Die schwedischen Autoren haben mit einer untergärigen Bierhefe der St. Eriks-Brauerei gearbeitet und geben bei dieser Gelegenheit einige Daten über die Vergärung von Natriumpyruvinat in Gegenwart und in Abwesenheit von antiseptischen Mitteln an. Sie finden eine kräftigere Vergärung des brenz-

---

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. **71**, 62, 1915.

[2]) Eine gewisse Förderung der Rohrzuckerhydrolyse seitens der Hefeninvertase bei gleichzeitiger Spaltung von Pyruvinaten mittels der Carboxylase beobachtete C. Neuberg, diese Zeitschr. **71**, 62, 1915.

[3]) Literatur siehe bei C. Neuberg, Die Gärungsvorgänge und der Zuckerumsatz der Zelle. Monographie bei G. Fischer, Jena **1913**.

[4]) M. Jacoby, diese Zeitschr. **79**, 44, 1917.

traubensauren Salzes mittels ihrer Heferasse nur in Gegenwart von Chloroform oder Toluol, während ohne die Giftzusätze die entwickelte Kohlensäuremenge wenig größer ist, als der Selbstgärung der Stockholmer Hefe entspricht.

Eine solche Erscheinung ist jedoch bei deutschen Hefen keineswegs regelmäßig zu beobachten. Aus einigen Versuchsprotokollen, die wir anschließend mitteilen, geht hervor, daß insbesondere obergärige deutsche Hefen sich ganz anders verhalten. Ein beschleunigender Einfluß des antiseptischen Zusatzes auf die Vergärung ist zwar erkennbar, nach 24 bis 48 Stunden oder gar nach 3 Tagen sind die Unterschiede jedoch ausgeglichen. Auf alle Fälle ist aber auch ohne Zusatz der Antiseptica die Pyruvinatvergärung meist erheblich stärker als die Eigengärung, und mit Hefen, die von Natur frei von selbstgärenden Kohlehydraten oder davon künstlich nach den Angaben von E. Buchner und S. Mitscherlich[1]) befreit worden sind, läßt sich ohne weiteres zeigen, daß die Spaltung der Pyruvinate von einer ganz anderen Größenordnung als die Selbstgärung ist.

Unsere Versuche sind mit den beiden obergärigen Reinzuchthefen OM und XII sowie mit der untergärigen UM angestellt. Aus unseren Resultaten ergibt sich, daß keineswegs, wie Euler und Löwenhamm für ihr Hefematerial beobachteten, die Selbstgärung der lebenden Hefe durch Antiseptica regelmäßig gesteigert wird. Offenbar bestehen auch in dieser Hinsicht große Unterschiede zwischen den verschiedenen Hefenrassen, wie sie auch in anderen Beziehungen bekannt sind. Aus unseren Versuchen können wir nur ableiten, daß die Vergärung von Pyruvinaten durch Toluol und Chloroform unter Umständen beschleunigt, aber nicht verstärkt wird. Gleichzeitig zeigen unsere Hefen vielfach eine fast vollständige Aufhebung der Selbstgärung durch die antiseptischen Zusätze, ganz entsprechend den früheren von Neuberg und Karczag[2]) mitgeteilten Befunden über die Einwirkung von bestimmten Neutralsalzen und anderen Stoffen,

---

[1]) E. Buchner und S. Mitscherlich, Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 554, 1904.

[2]) C. Neuberg und L. Karczag, diese Zeitschr. 36, 67, 1911.

welche die Selbstgärung deutscher Hefen hemmen, diejenige von englischen Hefen jedoch unter Umständen zu steigern scheinen.

Versuche:

Durch Zusammengeben gleicher Volumina der molekularen Lösungen von Brenztraubensäure und von Dikaliumphosphat sowie entsprechende Verdünnung wurden Flüssigkeiten hergestellt, die in bezug auf Brenztraubensäure 1 %ig waren. Von diesen Lösungen, in denen äquivalente Mengen Kaliumpyruvinat und Monokaliumphosphat als vorhanden angenommen werden können, wurden je 10,0 ccm mit je 1 g der betreffenden Hefe in Eudiometerröhren über Quecksilber gegeben und entweder für sich oder nach Zugabe von 0,2 ccm des Antisepticums im Brutschranke bei 37° belassen. Gleichzeitig wurden mit denselben Hefen Selbstgärungsproben angestellt; dabei wurde je 1 g Hefe in 10,0 ccm Wasser suspendiert und gegebenenfalls mit 0,2 ccm Antisepticum versetzt.

Die Bestimmungen der entwickelten Menge Kohlendioxyd geschahen durch Ausmessen des durch Markierung gekennzeichneten Volumens, das auf das Normalvolumen umgerechnet wurde. Wegen des hohen Dampfdrucks des Chloroforms wurde bei seiner Anwesenheit entweder bei Zimmertemperatur gemessen oder bei 37° und dann die durch NaOH nicht absorbierte Gasmenge berücksichtigt.

I. Hefe OM.

Toluol-Versuche					Chloroform-Versuche				
Zeit in Stunden	Entwickelte ccm CO_2				Zeit in Stunden	Entwickelte ccm CO_2			
	aus brenztraubensaurem u. phosphorsaurem Kalium		bei Selbstgärung			aus brenztraubensaurem u. phosphorsaurem Kalium		bei Selbstgärung	
	ohne Toluol	mit Toluol	ohne Toluol	mit Toluol		ohne $CHCl_3$	mit $CHCl_3$	ohne $CHCl_3$	mit $CHCl_3$
3	0,7	0,7	0	0	23	9,2	13,4	1,7	1,6
4	1,5	1,9	0	0	50	18,0	13,4	3,3	1,6
6	2,3	6,0	0	0,3	72	15,2	13,4	3,3	1,6
9¼	4,8	9,8	0	0,3					
23	10,5	12,0	0,7	1,0	Andere Versuchsreihe, Messung nur nach				
48	12,7	12,7	3,5	4,2	72	17,0	15,5	1,6	0,5

II. Hefe UM.

Toluol-Versuche					Chloroform-Versuche				
Zeit in Stunden	Entwickelte ccm CO_2 aus brenztraubensaurem u. phosphorsaurem Kalium		bei Selbstgärung		Zeit in Stunden	Entwickelte ccm CO_2 aus brenztraubensaurem u. phosphorsaurem Kalium		bei Selbstgärung	
	ohne Toluol	mit Toluol	ohne Toluol	mit Toluol		ohne Chloroform	mit Chloroform	ohne Chloroform	mit Chloroform
1	0,4	1,0	0	0	23	9,0	12,2	0,4	0,5
$1^3/_4$	0,7	5,8	0	0	50	15,5	12,2	8,0	0,5
$2^1/_2$	1,2	9,2	0	0	72	18,5	12,2	9,2	0,5
3	2,4	9,8	0	0	Andere Versuchsreihe, Messung nur nach				
4	6,6	10,7	0	0	72	26,0	16,0	6,6	1,4
6	12,5	12,0	0	0					
9–48	12,5	13,0	0,2	0,4					

Ergebnis der Versuche mit Hefen OM und UM.

Toluol beschleunigte die Vergärung des Pyruvinats durch beide Hefensorten im Anfange; die gesamten nach 2 Tagen entbundenen CO_2-Mengen waren etwa gleich den ohne Toluolzusatz entwickelten.

Die Selbstgärung der Hefe OM wurde durch Toluolzusatz verstärkt. Ein Einfluß war bei der Hefe UM nicht festzustellen.

Chloroform beschleunigte in beiden Fällen die Zerlegung des Pyruvinats anfänglich, brachte aber nach höchstens 24 Stunden die Gärung zum Stehen.

Die Selbstgärung beider Hefen war durch Chloroform stark gehemmt, zum Teil nahezu völlig unterdrückt.

III. Hefe XII.

Die Hefe war zu Beginn der Versuche 12 Tage bei $+2^0$ bis 4^0 aufbewahrt gewesen. Versuchsanordnung im übrigen genau wie vorstehend.

Zeit in Stunden	Entwickelte ccm CO_2 bei Pyruvinatgärungen: ohne Antisept.	mit Toluol	mit Chloroform	Selbstgärungen: ohne Antisept.	mit Toluol	mit Chloroform
4	0,4	2,5	12,0	0	0	0,5
12	1,9	12,5	14,2	0	0	0,5
22	4,8	15,0	14,2	1,2	0	0,6
28	8,2	15,6	14,2	1,8	0,2	0,6
48	13,6	15,6	14,4	2,5	0,2	0,6

Ergebnis der Versuche mit Hefe XII.

Die Pyruvinatgärungen wurden durch Toluol und Chloroform beschleunigt, durch $CHCl_3$ schneller, durch Toluol mit höherem Endwerte; nach 48 Stunden waren die Unterschiede jedoch unbedeutend.

Die Selbstgärung war fast ganz unterdrückt, durch Toluol kräftiger als durch Chloroform.

IV. Hefe OM, zuvor von selbstgärbaren Kohlehydraten befreit.

Versuchsanordnung wie zuvor.

Zeit in Stunden	Entwickelte ccm CO_2 bei: Pyruvinatgärungen			Selbstgärungen		
	ohne Antisept.	mit Toluol	mit Chloroform	ohne Antisept.	mit Toluol	mit Chloroform
1	0,25	0,35	0,25	0	0	0
2	0,4	0,8	3,0	0	0	0
3	0,4	2,0	3,5	0	0	0
5	0,6	3,2	4,0	0	0	0
6	1,0	4,0	5,5	0	0	0,5
7½	1,8	4,9	6,9	0	0	0,5
22	5,0	15,0	16,0	0,5	0	0,8
48	14,6	16,5	16,5	0,8	0	0,8
72	17,2	16,8	16,5	0,8	0	0,9

Ergebnis dieser Versuche.

Auch hier zeigte sich eine durch Antiseptica beschleunigte Angärung des brenztraubensauren Salzes. Nach 72 Stunden war jedoch die Gärung ohne Antisepticum reichlicher als die in Gegenwart von Toluol und Chloroform.

Die Selbstgärung, die bei dieser vorbereiteten Hefe an sich sehr klein ist, wurde durch Toluol völlig unterdrückt, durch Chloroform ein wenig beschleunigt, aber nicht verstärkt.

Über Indoxylglucuronsäure.

Von

Carl Neuberg und Erwin Schwenk.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie, Chemische Abteilung, zu Berlin-Dahlem.)

Der Indigo kommt in der Natur, soweit bisher bekannt, in Form von drei Indoxylverbindungen vor: als Indoxylglucosid im Pflanzenreich und als Indoxylschwefelsäure sowie als Indoxylglucuronsäure unter den Produkten des tierischen Stoffwechsels. Die beiden letztgenannten Substanzen bilden das sogenannte Harnindican. Das Pflanzenindican sowie die Indoxylschwefelsäure sind in Substanz dargestellt und in ihren Eigenschaften genau bekannt. Die Indoxylglucuronsäure konnte bislang nicht in reinem Zustande aus dem Harn abgeschieden werden[1]). Ihre Gegenwart darin wurde nur aus den Eigenschaften des Urins erschlossen, welche die gleichzeitige Gegenwart von gepaarter Glucuronsäure und Indoxyl anzeigten. Die Indoxylglucuronsäure ist, wie P. Mayer und C. Neuberg[2]) bewiesen haben, normalerweise im Harn vorhanden. Die genannten Autoren konnten dieselbe in der Bleiessig-Ammoniakfällung des alkoholisch-ätherischen Harnauszuges anreichern und damit ihr normales Vorkommen im Harne des Menschen feststellen. Mit einem sehr ähnlichen Verfahren wurde ihr Auftreten im Urin der Pflanzenfresser von Ch. Porcher und Ch. Hervieux dargetan, und zu demselben Schluß gelangte auch A. E. Austin. In vermehrter Menge findet sich Indoxylglucuronsäure im Harn nach Verfütterung von Indol (Külz, Mester) oder von Indoxyl liefernden Substanzen, wie von o-Nitrophenylpropiolsäure (G. Hoppe-Seyler).

---

[1]) Die Literatur über diesen Gegenstand siehe bei C. Neuberg, Der Harn, S. 443 u. 897.

[2]) P. Mayer und C. Neuberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. 29, 256, 1900.

Die Reindarstellung der Indoxylglucuronsäure oder auch nur die Isolierung eines krystallisierten Derivates war keinem der genannten Autoren gelungen, und nach jahrelangen, allerdings mit häufigen Unterbrechungen fortgesetzten Bemühungen ist es uns nunmehr möglich gewesen, die Indoxylglucuronsäure wenigstens in Form des Bariumdoppelsalzes von Indoxylglucuronsäure mit Indoxylschwefelsäure zu fassen.

Dieses Salz gehört dem jetzt mehrfach beobachteten Typus einer Doppelverbindung der Bariumsalze von gepaarter Schwefelsäure und gepaarter Glucuronsäure an. Ihr begegneten A. Kossel[1]) und G. Hoppe-Seyler[2]) bei der Phenetolglucuronsäure (Chinäthonsäure) sowie C. Neuberg und E. Kretschmer[3]) bei der p-Kresolglucuronsäure. Es ist vielleicht bemerkenswert, daß die gepaarte Glucuronsäure und gepaarte Ätherschwefelsäure, die als Stoffwechselprodukte fast stets vergesellchaftet auftreten, gar nicht so selten auch Neigung zur Bildung wirklicher chemischer Doppelsalze erkennen lassen.

Das erhaltene Doppelsalz ist eine molekulare Verbindung von indoxylschwefelsaurem Barium und indoxylglucuronsaurem Barium; es hat die Zusammensetzung:

$$(C_8H_6N.O.C_6H_8O_6)_2Ba + (C_8H_6N.O.SO_3)_2Ba + 2H_2O.$$

Bei der Festigkeit dieser Doppelverbindung, deren Trennung in die Bestandteile noch nicht gelungen ist, darf man sie wohl als gemischtes Bariumsalz beider gepaarten Säuren, $C_{22}H_{20}N_2SO_{11}Ba + H_2O$, im Sinne der Formulierung

```
 CH.O.C8H6N
  | \
 HCOH \
  |    O
OHCH  /
  |  /
 HC /           C8H6N
  |               |
 HCOH             O       + H2O
  |                  /O
 COO—Ba—O—S<
                     \O
```

betrachten.

1) A. Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 292, 1883.

2) G. Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 403, 1883.

3) C. Neuberg und E. Kretschmer, diese Zeitschr. 36, 15, 1911.

Die Isolierungsmethode ist, wie aus den nachstehenden experimentellen Daten hervorgeht, recht mühselig und in quantitativer Beziehung bisher von nur wenig befriedigendem Erfolge gewesen. Demnach war es bislang nicht möglich, die Doppelverbindung von Indoxylglucuronsäure mit Indoxylschwefelsäure in die Komponenten zu zerlegen. Trotzdem teilen wir unsere Ergebnisse mit, da sich bei der derzeitigen Schwierigkeit der Tierhaltung vorläufig kaum Gelegenheit bieten wird, durch Verfütterung von Indol neues Versuchsmaterial darzustellen, was wir für später beabsichtigen.

Immerhin ist es gelungen, ein schön krystallisiertes Derivat der Indoxylglucuronsäure darzustellen und dadurch mit Sicherheit die Existenz der Indoxylglucuronsäure zu erweisen.

Ein Hund von ca. 6 bis 7 kg Gewicht erhielt täglich per os 5 g gelösten Traubenzucker und 2 g Indol in wäßriger Aufschwemmung, im ganzen 20 g Indol. Ebenso bekam ein Kaninchen von ca. $1^1/_2$ kg Gewicht täglich 5 g Traubenzucker und 1 g Indol in wäßriger Suspension, im ganzen 6 g Indol. Es wurden so $6^1/_4$ l Kaninchenharn und $4^3/_4$ l Hundeharn gewonnen. Der gesamte unter Toluol aufgefangene und dauernd alkalisch gehaltene Harn wurde im Faust-Heimschen Verdunstungskasten bei carbonatalkalischer Reaktion eingeengt und mit wenig Wasser in einen Erlenmeyerkolben übergespült. Dann wurde mit Eisessig ganz schwach essigsauer gemacht und mit einer konzentrierten Lösung von neutralem Bleiacetat möglichst vollständig gefällt. Nach eintägigem Stehen in der Kälte wurde abgesaugt und mit wenig eiskaltem Wasser gewaschen. Das ammoniakalisch gemachte Filtrat wurde wieder im Faust-Heimschen Apparat eingeengt, hierauf mit wenig Wasser in einen Kolben gespült, dann mit Bleiessig unter Zusatz von etwas Ammoniak ausgefällt und 24 Stunden in der Kälte belassen. Der abgesaugte Niederschlag wurde mit wenig Eiswasser und Alkohol gewaschen. Das Filtrat gab noch eine schwache Naphthoresorcinprobe. Der Niederschlag wurde in einen Mörser gegeben, unter Zusatz von Wasser mit (der auf das verfütterte Indol berechneten Menge) Bariumcarbonat in mäßigem Überschuß verrieben und mit Wasser in einen Kolben übergespült. In diese Aufschwemmung wurde unter häufigem Umschütteln Schwefelwasserstoff zur Zersetzung der Bleisalze eingeleitet,

wobei gegen Schluß am Wasserbad erwärmt wurde. Die lauwarme Lösung wurde vom Bleisulfid und Bariumcarbonatschlamm abgesaugt und der Filterrückstand zweimal mit heißem Wasser ausgekocht. Die gesammelten Filtrate wurden dann im Vakuum eingeengt und schließlich auf 400 ccm gebracht.

100 ccm hiervon wurden, um die gepaarte Glucuronsäure aus ihrem Salz freizumachen, mit Phosphorsäure angesäuert und sofort mit einem Gemisch von Alkohol und Äther (1:2) extrahiert. Der abgehobene alkoholisch-ätherische Auszug wurde in drei Teile geteilt, von denen der erste unter Zusatz von Bariumcarbonat, der zweite unter Zusatz von 25%igem Ammoniak und der dritte für sich verdunstet wurde. In keinem Fall konnten Krystalle isoliert werden.

Die Hauptmenge der Bariumsalzlösung (300 ccm) wurde deshalb nochmals den beiden fraktionierenden Bleifällungen unterzogen. Nach Verwerfung des durch normales Bleiacetat erzielten Niederschlages wurde die Bleiessig-Ammoniakfällung nach Absetzen in der Kälte und gutem Auswaschen mit Eiswasser und Alkohol wieder mittels Bariumcarbonat und Schwefelwasserstoff in das Bariumsalz verwandelt. Die auf 300 ccm gebrachten Lösungen des Rohsalzes wurden alsdann durch Eintropfen in 3 l absoluten Alkohol gefällt. Das Filtrat des Niederschlages, das (durch Farbstoffe der Indigogruppe) nur ganz schwach rötlich gefärbt war, zeigte keine Drehung, aber schwache Glucuronsäure- und deutliche Indoxylreaktionen. Es wurde im Vakuum bei ca. 40° eingeengt, und die filtrierte Lösung wurde sodann im nicht evakuierten, braunen Exsiccator über konzentrierter Schwefelsäure vor Licht geschützt stehen gelassen.

Der durch die Alkoholfällung erzeugte Niederschlag wurde in 200 ccm Wasser aufgenommen und die klar filtrierte Lösung wieder in einen Liter absoluten Alkohols eingetropft. Dabei fiel neuerdings ein Bariumsalz in Flocken aus, von dem abermals abfiltriert wurde. Das erhaltene Filtrat dampften wir im Vakuum bei ca. 35° ein und stellten die konzentrierte Lösung, so wie oben beschrieben, in einen nicht luftleer gemachten braunen Exsiccator über konzentrierte Schwefelsäure.

Aus den beiden eingeengten Filtraten schieden sich nach mehrtägigem Stehen charakteristische Krusten ab, von denen die dickliche Mutterlauge abgegossen werden konnte. Die Krusten wurden mit ganz wenig eiskaltem Wasser abgespült und dieses Waschwasser zur Mutterlauge getan. Auch hieraus

setzten sich nochmals Krusten ab. Die gesamten krystallinischen Abscheidungen wurden in wenig Wasser gelöst, und die mit wenig Knochenkohle geschüttelte Flüssigkeit nach dem Filtrieren wieder über konzentrierter Schwefelsäure im braunen Exsiccator vor Licht geschützt aufbewahrt. Bald schieden sich Nädelchen ab, die in konzentrisch angeordneten Drusen zusammenstanden. Sie wurden auf Ton gestrichen und nochmals aus Wasser umkrystallisiert.

Die so erhaltenen Krystalle bilden in trockenem Zustand ein schwach gelbgraues Pulver, das in Wasser klar mit hellgelber Farbe löslich ist, die Glucuronsäureproben sowie die Indoxylreaktionen sehr schön zeigt und gleichzeitig gepaarte Schwefelsäure enthält. Ausbeute 0,8 g über Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz getrocknete Substanz.

0,0919 g wurden in 4,0 ccm Wasser gelöst und im 5-cm-Rohr polarisiert. Die Lösung drehte nach links und zeigte Drehungsänderung.

Stunden nach der Auflösung	Traubenzucker-apparat	Kreis-apparat	Daraus berechnet $[\alpha]_D$
1	— 0,6	—	— 54,9
6	— 0,5	— 0,46	— 40,0
24	— 0,3	— 0,40	— 34,0

Da die Substanz noch nicht absolut rein war, können diese optischen Daten nur als vorläufige betrachtet werden.

Die Analyse der Substanz ergab folgendes:

I. 0,2089 g Substanz lieferten, mit Schwefelsäure gefällt, 0,0712 g $BaSO_4$ (= 0,0419 g Ba; Ba-Bestimmung).

II. 0,1946 g Substanz gaben nach dem Kochen mit Salzsäure und durch Fällung mit Bariumchlorid 0,0716 g $BaSO_4$ (= 0,009833 g S; S-Bestimmung).

III. 0,2062 g Substanz entwickelten (verbrannt mit Bichromat und Kupferoxyd) 7,1 ccm N bei 16° und 763 mm = 0,0083 g N.

IV. Die direkten Wasserbestimmungen scheiterten an der Zersetzlichkeit des Doppelsalzes.

Demnach gefunden: I. Ba = 20,06 %,
II. S = 5,05 %,
III. N = 4,02 %.

Berechnet für	$C_{22}H_{20}O_{11}N_2SBa$; (657)	für $C_{22}H_{20}O_{11}N_2SBa + H_2O$ (675)
I. Ba =	20,82 %,	20,26 %,
II. S =	4,86 %,	4,74 %,
III. N =	4,26 %;	4,14 %.

Das durch Eingießen der Bariumsalzlösungen in absoluten Alkohol gefällte flockige Bariumsalz enthielt gebundene Glucuronsäure sowie Schwefelsäure nebst Indoxyl; es wurde im Vakuum über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet und lieferte so ca. 15 g eines fast weißen, nur schwach gelblich gefärbten Pulvers, das analysiert wurde.

I. 0,2189 g Substanz lieferten bei Fällung mit Schwefelsäure 0,0972 g $BaSO_4$,

II. 0,3324 g Substanz gaben nach Behandlung mit heißer Salzsäure und Bariumchlorid 0,0860 g $BaSO_4$.

Demnach gefunden: Ba = 26,13 %; S = 3,55 %.

Es war daher anzunehmen, daß gepaarte Glucuronsäure gegen das Indican im Überschuß vorhanden war. Daher wurden 11,9 g mit der (aus dem Bariumgehalt) berechneten Menge Kaliumsulfat in gesättigter wäßriger Lösung ausgefällt; vom ausgeschiedenen Bariumsulfat wurde heiß abfiltriert und die Lösung im Vakuum eingeengt. Dabei schied sich in geringer Menge (0,8 g) indoxylschwefelsaures Kalium aus. Die zurückbleibende Lösung krystallisierte auch bei längerem Stehen nicht mehr, sondern trocknete zu einem Harz ein. Dieses wurde in Wasser gelöst, den fraktionierenden Bleifällungen wie oben unterworfen und nach Behandlung mit $BaCO_3$ und H_2S als Bariumsalz mittels Alkohol gefällt. Weder die wäßrigen Lösungen dieses Niederschlages, noch sein eingeengtes alkoholisches Filtrat gaben beim Eindunsten krystallinische Abscheidungen.

Untersuchungen über den Einfluß mechanischer und chemischer Einwirkungen auf den Nährwert von Futterstoffen.

Von

C. Brahm, R. von der Heide, Marie Steuber
und N. Zuntz (Referent).

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Kgl.Landw.Hochschule zu Berlin).

(Eingegangen am 16. Dezember 1916.)

Mit 2 Figuren im Text.

I. Teil.

Aufschließung von Stroh durch Vermahlen und durch bakterielle Gärung.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden zunächst veranlaßt durch die Prüfung von mancherlei Vorschlägen und von eigenen Ideen, die den Zweck verfolgten, der während des Krieges herrschenden Futternot durch bessere Verwertung der vorhandenen Futtermittel und Erschließung neuer Nährstoffquellen zu steuern. Man kann diese Bestrebungen in zwei Gruppen teilen. Die eine versuchte auf mechanischem Wege durch weitgehende Zerkleinerung der Futtermittel eine Eröffnung möglichst zahlreicher Zellen zu erzielen und damit die Verdauung des Zellinhalts zu erleichtern, wobei gleichzeitig dem Tiere mechanische Kau- und Verdauungsarbeit erspart wird; die andere benutzte chemische Hilfsmittel zur Lösung der den Verdauungssäften widerstrebenden Bestandteile der Pflanzen. Die mechanische Zerkleinerung fand lebhaftes Interesse infolge der starken von den Behörden unterstützten Propaganda von Prof. H. Friedenthal. Über einige sie betreffende Studien an Schweinen berichteten wir vorläufig in Untersuchungen über Strohmehl als Schweinefutter[1]). Dort wurde auch über einige

[1]) Mitteilungen d. Deutsch. Landw. Ges. Nr. 16 1915 und „Über die Ausnutzung des Strohmehls“, Verhandl. d. Berl. physiolog. Ges. 7. Mai 1915. Berl. klin. Wochenschr. **1915**, Nr. 20.

erste Versuche der chemischen Aufschließung von Nährwerten aus Stroh durch die Lebenstätigkeit der im Darmkanal der Pflanzenfresser hausenden Bakterien berichtet. Diese Studien sollen hier ausführlicher dargelegt werden. —

Wir werden später berichten über Versuche, die an nährstoffreicherem Material, als es das Stroh ist, nämlich an Kleeheu, die Bedeutung der mechanischen Aufschließung klarlegen sollten. Schließlich soll über die Wirkung einiger rein chemischer Aufschließungsverfahren auf die Verdaulichkeit von Futterstoffen in dieser späteren Arbeit berichtet werden. — Über die Wirkung des Kochens mit Ätzalkali auf die Verdaulichkeit der so gereinigten Zellulose vgl. unsere Veröffentlichung in dieser Zeitschrift 78, S. 161.

Alle diese Studien gewinnen erst praktischen Wert, wenn man sich nicht mit der Prüfung der sogenannten Verdaulichkeit der Stoffe begnügt; denn das, was aus dem Darmkanal verschwindet, ist einerseits nicht seiner ganzen Menge nach dem Tierkörper zugute gekommen, und soweit dies der Fall ist, bedeutet es doch nicht immer dasselbe für die Arbeitsleistung des Körpers und für den Ansatz von Fleisch und Fett. Beim Wiederkäuer — in geringerem Maße auch beim Omnivoren — findet im Darmkanal ein erheblicher Energieverlust durch die Gärungsprozesse statt. Um ihn zu bestimmen, muß die Menge der durch diese Gärungsprozesse gebildeten brennbaren Gase festgestellt werden, und schließlich muß ermittelt werden, ob und in welchem Maße die Oxydationsprozesse im Körper unter dem Einfluß des in Frage stehenden Futtermittels gesteigert sind. Wir haben für diese letzten Aufgaben einen Respirationsapparat vereinfachter Form angewendet, der aber eine erhebliche Genauigkeit gewährleistet; er wird im folgenden beschrieben werden.

Kapitel 1. Strohmehl als Schweinefutter.

Beim Wiederkäuer liegen reichlich Versuche vor, aus denen hervorgeht, daß er nicht unerhebliche Mengen Nährstoffe aus Stroh, speziell aus dem zarteren Sommerhalmstroh gewinnen kann. Kellner gibt auf Grund seiner Stoffwechsel- und Respirationsversuche den „Stärkewert“ des Haferstrohs zu 17,0 kg auf 100 an und fand, daß 1,3 % Rohprotein, 1,0 % Reineiweiß

aus ihm verdaut werden. Er stellte ferner fest, daß der Stärkewert des kurz gehäckselten Strohs, weil es weniger Kauarbeit erfordert, etwas höher ist als der des Langstrohs, daß aber eine weitere Zerkleinerung des Häcksels durch Mahlen den Nähreffekt nicht steigere. Dieser Befund bezog sich aber nur auf ein relativ grobes Vermahlen des Strohs — dem gegenüber versprach sich Friedenthal von einer staubfeinen Vermahlung, durch die die Mehrzahl der Zellwände zertrümmert würde, eine weitgehende Ausnutzung von Nährstoffen aus dem Innern der Zellen auch durch Organismen, die keine Gärkammern am Anfang des Verdauungskanals haben. An derartigen Organismen, nämlich an Pferden, liegen Versuche von Zuntz und Hagemann vor. Sie zeigten, daß die Verdauungsarbeit für die Bewältigung des Strohs so erheblich ist, daß meist kein Nutzwert für Arbeitsleistung und Stoffansatz übrig bleibt. Für andere einmägige Tiere lagen noch gar keine Erfahrungen vor. Ein erheblicher Nutzwert des fein vermahlenen Strohs erschien aber deshalb unwahrscheinlich, weil die Zellen des reifen Strohs bei mikroskopischer Untersuchung fast frei von Reservestoffen gefunden werden, also nicht recht abzusehen war, welche Stoffe aus den eröffneten Zellen zu gewinnen seien. —

Unsere ersten Versuche wurden mit einem Haferstroh ausgeführt, das uns in gehäckseltem Zustande schon zu Stoffwechselversuchen am Ochsen gedient hatte. Das Strohhäcksel wurde nach vorgängigem scharfem Trocknen in einer Exzelsiormühle gemahlen. Es resultierte ein Mehl, in dem neben staubfeinen auch griesartige Teile und Fäserchen von 1 bis 2 mm Länge vorhanden waren. Dieses Grobmehl wurde im Gemisch mit Milch und Zucker von Schweinen gut aufgenommen. Durch 24stündiges Mahlen in der Kugelmühle wurde das grobe Mehl in ein staubfeines, sich wie feinstes Weizenmehl anfühlendes Produkt verwandelt, in dem nur noch ganz vereinzelt Teilchen von der Größe eines Kartoffelstärkekorns zu finden waren. — Zur Verfütterung wurde das Strohmehl mit heißem Wasser angebrüht, dann mit Magermilch und Zucker vermischt. Der resultierende dünnflüssige Brei wurde von den Schweinen gern genommen. Es standen uns 2 Tiere im Gewicht von 20 bis 40 kg zur Verfügung. Sie wurden stets eine Reihe von Tagen mit dem zu prüfenden Futter ernährt, ehe das Sammeln von Harn und Kot begann.

In den ersten Versuchen gaben wir zum letzten Futter des Vorversuchs eine abgrenzende Substanz, einmal Kohle, das andere Mal Karmin, doch zeigte sich, daß die Abgrenzung bei weitem nicht so scharf wie beim Menschen gelingt. Das ist bei der großen Kapazität des Blinddarms, in dem sich die Reste mehrerer Mahlzeiten mischen, sehr erklärlich. — Später haben wir auf die Abgrenzung verzichtet und nur genau die Zeit der Kot- und Harnentleerung zu Beginn und zu Ende des Versuches in Rechnung gestellt. Bei den massigen und häufigen Kotentleerungen, die das Strohfutter bewirkten, ergibt dies einfache Verfahren gute Resultate. — Um die Schweine nicht in ihrem Behagen zu stören, wurden keine besonderen Vorrichtungen zum Sammeln von Harn und Kot angelegt. Der Harn floß vom glatt zementierten Stallboden in das darunter befindliche Sammelgefäß; unmittelbar nach jeder Entleerung wurde die benetzte Partie des Bodens von der Tag und Nacht vorhandenen Stallwache mit destilliertem Wasser nachgespült. Der Kot wurde unmittelbar nach der Entleerung aufgenommen. An der Hinterwand des Stalles war eine Holzpritsche befestigt, die von den Tieren regelmäßig als Lager benutzt wurde. — Die Analyse der Nahrung und des Kotes erfolgte nach den üblichen Methoden. Die Stickstoffbestimmung wurde einerseits am frischen Kote jedes Tages, andererseits zur Kontrolle an dem für die ganze Versuchsreihe hergestellten lufttrocknen Mischkote ausgeführt. Zur Herstellung dieses Mischkotes, an dem die übrigen analytischen Bestimmungen ausgeführt wurden, diente meist ein Viertel des sorgfältig durchgemischten Tageskotes. Derselbe wurde in einigen Fällen ohne weiteres im Vakuumtrockenschrank, in dünner Schicht auf Blech ausgebreitet, getrocknet. Die abgesaugte Luft passierte eine große Vorlage mit Schwefelsäure zur Aufnahme des verflüchtigten Ammoniaks.

Die Analyse der getrockneten Probe stimmte nach Zurechnung des an der Vorlage gefundenen Ammoniaks stets ausgezeichnet mit der direkten Bestimmung des Stickstoffs im frischen Kot überein. Ebenso befriedigende Übereinstimmung wurde in anderen Versuchsreihen erzielt, in denen die Kotprobe vor dem Trocknen mit einer abgemessenen, zur deutlichen Ansäuerung ausreichenden Menge Weinsäurelösung verrieben wurde. Die zugesetzte

Weinsäure wurde dann bei der Analyse von der Trockensubstanz und von den N-freien Extraktstoffen des Kotes und ihre Verbrennungswärme von dem Brennwert des Kotes abgezogen. Trocknen des Kotes mit überschüssiger Salzsäure ergab weniger befriedigende Resultate. — Zur Calorimetrie des Harns hat sich das Antrocknen desselben auf einem Streifen schwedischen Filtrierpapiers mit Hilfe eines lebhaften Stromes auf 40 bis 50° erwärmter Luft gut bewährt. 5 bis 10 ccm Harn werden im Platintiegel der Berthelot-Bombe vor dem unteren Ende eines senkrecht stehenden, etwa 8 cm hohen, 0,3 cm weiten Schlitzes aufgestellt, aus welchem die heiße Luft ausströmt. Ein in die Flüssigkeit tauchender und durch Capillarität mit dieser getränkter Papierstreifen hängt vor der ganzen Länge des Schlitzes. In etwa einer Stunde ist der Harn ohne Verlust am Papier angetrocknet und wird mit diesem verbrannt. Wenn der Harn vorher sorgfältig neutralisiert war, findet kein Stickstoffverlust beim Trocknen statt. Die zu den folgenden an Schwein I und II ausgeführten Versuchen gehörigen Analysen folgen auf Tabelle I.

Tabelle I.

Substanz	Prozentische Zusammensetzung							
	Asche	Organ. Substanz	Stickstoff	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freier Extrakt	Calorien
Strohmehl I	5,55	91,63	0,547	3,42	2,09	27,30	58,82	416,83
Strohmehl II (aus Dahlem geliefert)	6,67	85,98	1,374	8,59	2,75	12,46	62,18	—
Strohmehl III (Flugstaub der Dahlemer Mühle)	10,13[1]	82,70		5,34	4,26	24,47	48,63	395,57
Kleber	2,80	88,50		80,72	1,30	—	6,48	—
Kot: Schwein I, Vers. 1, lufttrocken	6,88	89,62	1,728	10,80	1,99	25,72	—	432,50

Schwein I. Versuch 1.

Dauer 4 Tage (16. bis 20. Febr. 15).

Die Futteraufnahme war etwas unregelmäßig, zur Anregung des Fressens mußte am letzten Tage etwas reichlicher als vorher Zucker verabreicht werden. Von den verfütterten 85 g Kleber wurden 1,68 g (lt. N-Bestimmung) von dem Tier verstreut, also nur 83,32 g gefressen. Der frisch gesammelte Kot wog 6,095 kg

[1]) Davon 4,21 % Kieselsäure.

und enthielt in 100 g = 0,2767 g, im ganzen also 16,875 g N. Die Waschwässer des Stalles (Kotstandwasser) lieferten im ganzen 1,662 g N, entsprechend also $\frac{1,662}{0,2767} = 600,7$ g frischen Kotes. Das Tier hatte also 6095 + 600,7 = 6696 g Kot geliefert und darin 18,537 g N = 115,86 g Rohprotein ausgeschieden. Die Verbrennungswärme des Kotes betrug 432,62 und 432,37, im Mittel 432,5 Cal pro 100 g.

Futter	Asche	Organ. Substanz	Stickstoff	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freier Extrakt	Calorien
1971 g Stroh Nr. 1	109,39	1806,0	—	67,39	41,24	538,1	1159,3	8215,7
315 g Zucker	—	312,0	—	—	—	—	312,0	1247,4[2]
50 g Melasse	—	35,5	—	5,25	—	—	30,2	564,7 (Melasse und Keber)
83,32 g Keber	2,33	73,7	—	67,26	1,09	—	5,4	
20 g $CaCO_3$	20,0	—	—	—	—	—	—	—
4 g NaCl	4,0	—	—	—	—	—	—	—
Gesamte Einnahme	**135,72**	**2227,2[1]**	—	**139,90**	**42,33**	**538,1**	**1506,9**	**10027,8**
6696,0 g frischer / 1801,7 g lufttrockner Kot	123,95	1597,0[1]	18,537	115,86	35,85	463,4	981,9[1]	7762,0
Verdaut	11,77	630,2	—	24,04	6,48	74,7	525,1	2265,8
Verdaut aus Zucker-Melasse und Kleber	—	416,9	—	69,70	0,60	—	346,6	1770,4
Verdaut aus Strohmehl	—	213,3	—	–45,66	5,88	74,7	178,4	495,4
Verdaut aus 100 g Strohmehl	—	10,82	—	– 2,32	0,30	3,79	9,05	25,13
Verdauungskoeffizienten, % der Strohmehlbestandteile	—	11,89	—	–67,75	14,26	13,88	15,41	6,03

Zur Berechnung der Verdaulichkeit des Strohs nehmen wir auf Grund der in der Literatur vorliegenden Versuche an, daß das Schwein den als reinen Zucker und als Melasse aufgenommenen Rohrzucker vollständig resorbiert, aus dem Kleber das Fett zu 60%, das Protein zu 97%, die N-freien Extraktstoffe zu 80%, endlich das Protein der Melasse zu 60%. Dann sind als verdaut aus diesen Stoffen zu rechnen:

[1]) Nach Abzug von 17,4 g Weinsäure und deren Verbrennungswärme = 1,745 Cal pro g.

[2]) 1 g reiner Rohrzucker (organische Substanz) zu 3960 Cal. gerechnet; für Melasse und Kleber Verbrennungswärme berechnet aus 1 g Protein = 5,7 Cal, 1 g N-fr. = 3,96 Cal, 1 g Fett = 9,5 Cal.

66,55 + 3,15 =	69,7 g	Rohprotein	=	397,3 Cal
	0,6 g	Rohfett	=	0,6 „
312,0 + 30,2 + 4,4 =	346,6 g	N-fr. Extrakt	=	1372,5 „
	416,9 g	org. Substanz	=	1770,4 Cal.

Indem diese Zahlen von der Gesamtmenge des Verdauten abgezogen werden, finden wir das aus Strohmehl Verdaute, das wir in der folgenden Reihe auf 100 g Strohmehl berechnen. Die letzte Reihe ergibt die üblichen Verdauungskoeffizienten.

Wenn wir die verdauten Nährstoffe mit ihren Verbrennungswärmen multiplizieren, und zwar mit 5,7 Cal pro Gramm Eiweiß, 9,5 Cal pro Gramm Fett, 3,3 Cal pro Gramm Rohfaser, 4,2 Cal pro Gramm N-freien Extrakt, so ergeben sich aus 100 g Strohmehl 40,59 Cal.

Mit dieser Zahl ist das Ergebnis der direkten Verbrennung von Nahrung und Kot, 25,13 Cal, zu vergleichen. Dies letztere Resultat ist das zuverlässigere, wie bei der Diskussion von Versuch 3 (S. 415) näher dargelegt wird.

Der Harn der Versuchstage betrug im ganzen 1684 ccm und enthielt in 100 ccm = 260,0 mg N, im ganzen also 4,38 g N entsprechend 27,36 g Rohprotein. Da 24,02 g Rohprotein verdaut wurden, hat das Tier in den 4 Tagen 3,32 g Eiweiß von seinem Körper verloren. Die Verbrennung des Harns lieferte auf je 10 ccm $\left.\begin{matrix}534{,}6\\549{,}1\end{matrix}\right\}$ Mittel 541,85 Cal, also für die 1684 ccm 91,25 Cal; auf 1 g N entfallen 20,8 Cal. Da bei vollwertigen Futtermitteln und im Hunger nur 7 Cal auf 1 g Harnstickstoff kommen, bedingt das Stroh eine Steigerung von 13,8 Cal pro Gramm N, im ganzen 60,4 Cal, entsprechend 3,07 Cal auf 100 g Stroh. Der physiologische Nutzwert von 100 g Strohmehl ist also 25,13 — 3,07 = 22,06 Cal.

Schwein II. Versuch 1. 24. Febr. bis 2. März 1915.

Dasselbe Stroh wie bei Schwein I. aber in der Kugelmühle staubfein gemahlen. Eine erste Periode vom 16. bis 21. Febr. 15 wurde vorzeitig abgebrochen, weil das Tier starken Gewichtsverlust zeigte. Der Versuch wurde dann endgültig am 24. Februar begonnen und dauerte 6 Tage.

Tiergewicht zu Anfang 21,37 kg.
„ am Schluß 20,25 kg.

Zunächst wurde, wie in der vorigen Reihe, neben dem Strohmehl Kleber und Zucker gegeben. Am zweiten Tage war ein erheblicher Rest geblieben, und das Tier zeigte wenig Freßlust. Deshalb wurde der Kleber durch Magermilch ersetzt, und nunmehr konnte der Versuch einwandfrei zu Ende geführt werden.

Folgendes ist die Verdauungsbilanz:

Futter	Asche	Org. Sub.	Rohprot.	Rohfett	Rohfaser	N-fr. Extr.	Calorien
3705 g Strohmehl	203,78	3394,9	126,67	77,43	1011,5	2179,3	15443,2
540 g Zucker	—	535,0	—	—	—	535,0	2138,5
30 g Kleber	8,40	26,5	24,22	0,38	—	1,9	1841,0[1]
4 l Magermilch	—	378,8	97,48	4,00	—	277,3	
25 g $CaCO_3$	25,0	—	—	—	—	—	—
5 g NaCl	5,0	—	—	—	—	—	—
Gesamte Einnahme	242,18	4335,2	248,37	81,81	1011,5	2993,5	19422,7
9715,8 g frischer Kot[2]) . 3116,9 g lufttrockner Kot	214,13	2760,7[3])	192,49	61,09	590,0	1917,1[3])	13537,0
Verdaut	28,05	1574,5	55,88	20,72	421,5	1076,4	5885,7
Verdaut aus den Beigaben[4])	—	914,7	111,22	3,47	—	800,0	3835,0
Verdaut aus Strohmehl	—	659,8	— 55,34	17,25	421,5	276,4	2050,7
Verdaut aus 100 g Strohmehl	—	17,81	— 1,494	0,47	11,38	7,46	55,34
Verdaut in Proz. der Strohbestandteile	—	19,43	— 43,69	22,28	41,67	12,68	13,21

[1]) Gerechnet Protein zu 5,7 Calorien per Gramm. Fett zu 9,5, Zucker zu 3,96.

[2]) Der direkt gesammelte frische Kot wog 9040 g und enthielt bei 1,982 % Rohprotein im ganzen 179,1 g Rohprotein. Das Kotstandwasser lieferte nach dem Verkochen mit Schwefelsäure 2,143 g N = 13,394 g Rohprotein. Dem gesamten Kot entsprechen also 192,49 g Rohprotein. Die direkt gefundene und analysierte Trockensubstanz des Kotes ist im Verhältnis 179,1 : 192,49 zu erhöhen von 2900 g auf 3116,9 g, und dementsprechend sind die einzelnen Bestandteile des Kotes zu berechnen. — 100 g Kot lieferten 433,27 / 435,35 } 434,31 Calorien.

[3]) Abzüglich 18,7 g Weinsäure.

[4]) Verdaulichkeit von Zucker und Kleber wie im vorigen Versuch gerechnet; für Magermilch Kellners Verdauungskoeffizienten benutzt: Org. Substanz 90 %, Rohprotein 90 %, Rohfett 81 %, N-fr. Extrakt 95 %.

Wenn wir das aus 100 g Stroh Verdaute wie beim vorigen Versuch auf seinen calorischen Wert berechnen, ergeben sich 61,42 Cal gegenüber 40,59 Cal beim grob gemahlenen Stroh. — Die direkte Calorimetrie ergibt wieder einen geringeren Wert, als die Berechnung aus den verdauten Nährstoffen, nämlich 55,34 Cal auf 100 g Stroh. Nach ihr ist der Nutzen des Feinmahlens ein Gewinn von 55,34 — 25,13 = 30,21 Cal nach der indirekten Rechnung 20,83 Cal. Die mit Aufwand von sehr großer mechanischer Arbeit durchgeführte Feinmahlung hat also den Nährwert nur um 20 bis 30 Cal erhöht. Auch die negative Stickstoffausnutzung ist durch das Feinmahlen etwas besser geworden, indem auf 100 g Strohmehl nur 1,494 g Rohprotein verloren gingen, gegen 2,32 g im vorigen Versuch bei gröberer Mahlung. Dies erklärt sich wohl daraus, daß das feiner gemahlene Stroh den Darm nicht so sehr zu Absonderung von Schleim reizte.

Der Harn der Versuchsperiode wog 4958 g (spez. Gew. 1,0195) = 4863 ccm.

100 ccm = 0,238 g N. Der ganze Harn also = 11,575 g N.
Das Spülwasser enthielt im ganzen . . . = 0,741 g N.
Gesamter Harn . . . . = 12,316 g N,

entsprechend 5175 ccm entleerter Harn.

Der Körper verlor also mit dem Harn 12,316 × 6,25
= 76,97 g Protein.
Verdaut wurden im ganzen . . . . . = 55,88 g „
Der Körper des Tieres büßte ein . . = 21,09 g Protein.

21,09 g Protein = 88,16 g frisches Fleisch[1]). 10 ccm Harn lieferten $\left.\begin{matrix}596,6\\565,8\end{matrix}\right\}$, im Mittel 581,2 cal bei 0,0238 g N, also auf 1 g N = 24,41 Cal Davon bedingt durch das Stroh 24,41 — 7,0 = 17,41 Cal pro 1 g N, oder 214,4 Cal für 3705 g Strohmehl —, für 100 g Strohmehl 5,79 Cal. Hierdurch sinkt der physiologische Nutzwert dieses fein gemahlenen Strohmehls auf 49,55 Cal.

---

[1]) Vgl. Kellner, Ernährungslehre, 7. Aufl., S. 72, wonach 79,7 g Protein = 76,6 g Trockenfleisch und 333 g frisches Fleisch; 1 g Protein = 4,18 g frisches Fleisch.

Das Tier wog am 24. Februar 21,37 kg, 6 Tage später 20,25 kg; es wurden also 1,12 kg eingebüßt. Davon entfallen auf Fett und Wasser 1120 — 88 = 1032 g.

Die Energiezufuhr betrug in verdauten

55,88 g Rohprotein	à 5,7	Cal =	318,5 Cal
20,72 g Fett	à 9,5	„ =	196,8 „
421,5 g Rohfaser	à 3,78	„ =	1593,3 „
1076,4 g N-fr. Extrakt	à 4,1	„ =	4413,2 „
			6 521,8 Cal

Die entleerten 5175 ccm Harn enthielten auf 100 ccm = $\left.\begin{matrix}5{,}966\\5{,}658\end{matrix}\right\}$ Mittel 5,812 Cal . . . . . . 300,8 „

Dem Körper zur Verfügung . . . . 6221,0 Cal.

Im Harn finden wir auf 1 g N = 24,42 Cal.

Der Verbrauch an Calorien ergibt sich aus den Respirationsversuchen Nr. 3 bis 5 am selben Tier bei gleichem Körpergewicht.

Im Mittel dieser Versuche haben wir einen Verbrauch von 62,13 Cal pro Kilogramm $\times$ 24 Stunden, also bei dem mittleren Gewicht von 20,81 kg = 1292,9 Cal pro Tag oder 7757,4 Cal in den 6 Versuchstagen. Das Tier mußte also von seinem Körper hergeben

7757,4 — 6221 = 1536,4 Cal,

davon wurden durch 21,09 g Protein à 5,7 Calorien = 120,2 „

gedeckt. Der Rest von . . . . 1416,2 Cal.

verteilt sich auf Fett und Glykogen. Nun entspricht 1 g Fettgewebe etwa 8,6 Cal, 1 g des im Körper mit seinem 3fachen Gewicht Wasser abgelagerten Glykogens 1,0 Cal[1]). Der Gewichtsverlust an N-freien Stoffen in Höhe von 1032 g läßt sich also nach folgender Gleichung in den Fettanteil x und den Glykogenanteil 1032 — x zerlegen:

$$8{,}6\,x + 1032 - x = 1416{,}2; \quad x = 50{,}5 \text{ g Fettgewebe.}$$

Der Rest = 1032 — 50,5 = 981,5 g ist Glykogen und Wasser.

Die obige Schätzung des Calorienbedarfs unseres im Mittel 20,8 kg wiegenden Schweinchens kann noch auf Grund der Respirationsversuche von v. d. Heide und Klein[2]) nachgeprüft werden. Diese fanden bei einem sehr rohfaserarmen, sicherlich leichter verdaulichem Futter den Tagesbedarf = 1433 Cal für 1 qm. Unser Tier hat eine Oberfläche = $20{,}8^{\frac{2}{3}} \times 9{,}02$ = 0,6822 qm entsprechend einem Tagesbedarf von 977,6 Cal = 5865,6 Cal für 6 Tage. Diese Zahl ist erheblich niedriger als das Ergebnis der Respirationsversuche mit unserem Schweine. Es dürfte wohl beim Schwein neben der Oberfläche auch der Fettgehalt des Körpers sowie das jugendliche Alter von erheblichem Einfluß auf die Größe des Verbrauchs sein. Vor allem aber bedingte, wie wir noch sehen werden, die mechanische Verdauungsarbeit bei Strohfutter eine nennenswerte Steigerung des Verbrauchs.

[1]) S. die Begründung in Zuntz, Loewy, Müller, Caspari, Höhenklima u. Bergwanderungen. Verlag Bong, Berlin, S. 114.

[2]) v. d. Heide u. Klein, diese Zeitschr. 55, 202, 1913.

Schwein II. Versuch 2.

Aus den Untersuchungen von Arendt und v. d. Heide geht hervor, daß die einzelnen Teile des Strohes einen außerordentlich verschiedenen Wert haben, und zwar in der Reihenfolge, daß am wenigsten N-haltige Substanz und N-freier Extrakt und am meisten Rohfaser sich in den unteren Stengelgliedern finden. Günstiger ist die Zusammensetzung der oberen Stengelglieder, noch günstiger die der Blätter und der Ähren. Diese Angaben sind durch eine Untersuchung des uns zur Verfügung stehenden Strohs bestätigt worden. S. von der Heide, diese Zeitschrift 79, 1917.

Es war nun von Friedenthal der Gedanke geäußert worden, es möchte beim Absieben oder Abblasen der feinsten Mehlteile von den gröberen zugleich eine Trennung der wertvolleren Futterbestandteile von den stärker verholzten und verkieselten möglich sein. Wir erhielten von der Domäne Dahlem, wo größere Mengen Haferstroh zu Futterzwecken gemahlen wurden, eine zu einem Fütterungsversuch ausreichende Portion feinsten Flugstaubes. Bei Vermahlung von 35 kg getrockneten Strohhäcksels resultierten 4,75 kg = 13,6% des Häcksels in dieser feinsten Form. Daneben wurden mit Hilfe der Sichtmaschine 13,9 kg feines Mehl und 15,35 kg grobes Material, das nicht durch das feine Sieb ging, gewonnen. Die Analysen des Flugstaubes ergaben:

7,17% Wasser, 92,83% Trockensubstanz, 10,13% Asche, 4,21% Kieselsäure, 82,70% org. Substanz, 5,344% Rohprotein, 4,26% Rohfett, 24,47% Rohfaser, 48,63% N-freien Extrakt, 395,57% Calorien.

Hiermit ist die Analyse des gewöhnlichen Strohmehls zu vergleichen, das zu den ersten Versuchen gedient hatte:

97,18% Trockensubstanz, 5,55% Asche, 3,42% Rohprotein, 2,09% Rohfett, 27,30% Rohfaser, 58,82% N-freier Extrakt, 416,83% Calorien.

Sowie mit Kellners Mittelwert für Haferstroh:

85,7% Trockensubstanz, 5,7% Asche, 3,8% Rohprotein, 1,60% Rohfett, 38,70% Rohfaser, 35,90% N-freier Extrakt.

Es ist also in der Tat der Protein- und Fettgehalt dieses Flugstaubes etwas höher, als der durchschnittliche des gesamten

Haferstrohs. Aber auch sein Gehalt an Asche, speziell Kieselsäure, ist besonders hoch. Der Stoffwechselversuch mit diesem Stroh begann am 6. Mai 1915 mit einer 6 Tage dauernden Vorfütterung. Vom 12. Mai ab wurde 4 Tage lang Kot und Harn gesammelt. Sowohl in der Vorfütterung wie in der eigentlichen Fütterungsperiode erhielt das Tier neben 1200 g des staubfeinen Mehles 2 Liter Vollmilch und 300 g Zucker. Die analytischen Daten des Versuchs geben die folgenden Tabellen.

Von dem Kot wurde täglich in einem aliquoten frischen Teil der Stickstoff bestimmt, ferner wurde ein Viertel der gesamten Menge getrocknet und dann an der Luft einige Zeit hingestellt. Die so ermittelte lufttrockene Substanz des ganzen Kotes enthält Kolonne 2 der Tabelle II.

Tabelle II.

Kot.

	Gesamtmenge frisch kg	Lufttrocken kg	Lufttrockene Subst. in %	N_2 in 100 g fr. Kot in mg	N_2 in der Tagesportion g
I.	4,470	0,8180	18,3	263,8	11,792
II.	6,500	0,8680	13,4	228,8	14,872
III.	4,190	0,7980	19,0	299,3	12,541
IV.	5,790	1,3260	22,9	291,0	16,849
	20,950	3,8100	18,2		56,054
Im Standwasser .	1,600	0,2910			4,281
	22,550	4,101			60,335

Die prozentische Zusammensetzung des gemischten lufttrockenen Kotes war:

93,66% Trockensubstanz, 12,46% Asche, 4,61% SiO_2, 81,20% organ. Substanz, 1,260% N = 7,88% Rohprotein, 5,62% Rohfett, 23,85% Rohfaser, 43,85% N-freier Extrakt, 422,1% Calorien.

Tabelle III.

Harn.

	Menge des Harns unfiltriert kg	Menge des Harns filtriert kg	Spez. Gewicht	N_2 in 100 g mg	N_2 in der Tagesportion
I.	3,750	3,346	1,010	111,1	3,681
II.	3,530	3,321	1,010	120,2	3,952
III.	3,880	3,722	1,009	126,0	4,648
IV.	4,948	4,702	1,010	107,7	5,014
		15,091			17,295

Die großen Unterschiede in der Menge des filtrierten und unfiltrierten Harns erklären sich daraus, daß in den Harn immer kleine Quantitäten Kot, die dem Fußboden des Stalles anhafteten, hineingelangten. Das Kotpulver wurde auf dem Filter gesammelt und mit reichlich Wasser ausgewaschen. Dieses Waschwasser wurde mit dem beim Spülen des Fußbodens direkt gewonnenen Harnspülwasser vereinigt. Es enthielt im ganzen für die 4 Versuchstage 1,488 g N. Nach dem Abspülen des Harns vom Boden des Stallraumes wurde dieser gründlich mit Wasser abgerieben und die Gesamtmenge dieses Wassers samt einer mäßigen Menge Filtrierpapiers, die zum vollständigen Abwischen benutzt worden war, mit den vom Harn abfiltrierten Kotresten vereinigt, die ganze Masse mit Schwefelsäure verbrannt. Es ergab sich so eine dem Kot der ganzen Versuchsreihe angehörige Stickstoffmenge von 4,281 g. Mit den im frischen Kot gefundenen 56,054 g ergibt dies im Kot der 4 Tage = 60,335 g N = 15,084 g pro Tag.

Da den im frischen Kot gefundenen 56,054 g N ein Gewicht von 20,950 kg frisch und 3,810 kg lufttrocken entspricht, gehören zu den 4,281 g N der Spülwässer: 1600 g frischer und 291 g lufttrockener Kot. Der Gesamtkot der 4 Tage wiegt also frisch 22 550 g, lufttrocken 4101 g, und enthält 60,335 g N. Nun entfiel der letzte Kot der Vorperiode am 12. Mai vorm. $8^h 43'$, der letzte des Versuchs am 16. Mai vorm. $11^h 45'$. Die Kotsammlung dauerte also 182 Minuten länger als 4 Tage, und die Gesamtmenge wird durch Multiplikation mit $\frac{1440}{5942} = 0{,}24\,234$ auf 24 Stunden berechnet zu 5464,8 g frischem, 993,84 g lufttrockenem Kot und 14,622 g N aus den mit dem frischen Kote ausgeführten Bestimmungen.

Nach den oben mitgeteilten Prozentwerten des Gehaltes des lufttrockenen Kotes an den einzelnen Bestandteilen berechnet sich hieraus:

Trockensubstanz	Asche	SiO_2	Organ. Substanz	N_2	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freier Extrakt	Calorien
930,8	123,83	45,82	807,0	14,62[1]	91,39[1]	55,85	237,03	422,73[1]	4195,0

[1]) Nach der Analyse des lufttrockenen Kotes hatten wir nur 78,26 g Rohprotein und 435,86 g N-freien Extrakt, nach der maßgebenden Stick-

Dieser Tagesausscheidung im Kot stehen folgende Einnahmen gegenüber:

Substanz	Gewicht g	Trockensubstanz	Asche	SiO_2	Organ. Substanz	N_2	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freier Extrakt	Calorien
Strohmehl .	1200	1114,0	121,56	51,48	992,4	10,26	64,13	51,12	293,64	583,51	4747,0
Milch . . .	2000[1]	233,0	14,2	—	218,8	9,64	60,25	58,60	—	100,0	1157,0
Zucker . . .	300	298,0	1,0	—	297,0	—	—	—	—	297,0	1176,1
Summa:	3500	1645,0	136,8	51,48	1508,2	19,90	124,38	109,72	293,64	980,51	7080,1

Hieraus ergibt sich als verdaut aus dem Strohmehl unter der Annahme, daß Milch und Zucker ganz verdaulich seien:

Trockensubstanz	Asche	SiO_2	Organ. Substanz	N_2	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freier Extrakt	Calorien
183,2	— 2,27	5,66	185,4	— 4,36	— 27,26	— 4,73	56,6	160,8	552

Richtiger ist, daß wir nur den Zucker als ganz verdaulich annehmen, für die Milch aber Kotbildung in Rechnung stellen, wie sie in anderen Versuchen am Schwein gefunden wurde. Wir würden danach annehmen, daß in den Kot gehen von den 60,25 g Protein 6% = 3,6,1 g, von den 58,60 g Fett 2,0% = 1,17 g, von den 100 g N-freien Extrakt 6% = 6,0 g. Es käme dann auf das Strohmehl als verdaut: —23,65 g Rohprotein, — 3,56 g Rohfett, 56,6 g Rohfaser, 154,8 g N-freier Extrakt.

Zur indirekten Berechnung des Brennwertes des aus dem Strohmehl Verdauten rechnen wir 1 g N-freie Extraktstoffe zu 4,1 Cal, 1 g Rohfaser (unter Abzug des Methanverlustes) zu 3,78 Cal. (Diese Zahl ist abgeleitet aus 2 Respirationsversuchen am Schwein, worüber wir diese Zeitschrift 73, S. 180 ff. berichtet haben. Dort fanden wir im Mittel auf 1 g verdaute Cellulose 0,317 Cal als Brennwert der gebildeten Gärungsgase.) 1 g im Kot ausgeschiedenen Rohproteins zu 5,7 Cal und 1 g Fett zu 9,5 Cal.

---

stoffbestimmung im frischen Kot ändern sich die Zahlen, wie oben ausgeführt.

[1]) Die hier verfütterte Milch hatte im Liter 4,82 g N_2 = 30,12 g Rohprotein und 29,3 g Fett.

Es wären danach aus dem Strohmehl verwertet worden

als N-freier Extrakt 659,3 Cal,
als Rohfaser . . . 213,9 „
873,2 Cal

Hiervon gehen ab . 134,8 Cal für mit den Darmsekreten ausgeschiedenes Protein und 33,8 „ für Fett des Kotes.
168,6 Cal.

Dies von den obigen 873,2 Cal abgezogen, ergibt **704,6** Cal als Brennwert des aus dem Strohmehl Verdauten.

Nun haben wir aber auch direkt die Verbrennungswärme des Strohmehls ebenso wie die des Kotes in der calorimetrischen Bombe bestimmt. Die Verbrennungswärme des Strohmehls war 3955,7 cal pro Gramm, die des Kotes 4221,3 cal. Demnach beträgt die Verbrennungswärme der Tagesportion von 1200 g Strohmehl 4746,8 Cal und die Verbrennungswärme der 993,84 g lufttrockenen Kotes 4195,3 Cal. Wenn man von den anderen Nährstoffen absieht, wären also 4746,8 — 4195,3 Cal = 551,5 Cal aus dem Strohmehl resorbiert worden. Nun enthält aber der Kot auch noch Reste der Milch, und zwar 3,61 g Protein, entsprechend 20,6 Cal, 3,75 g Fett à 9,5 Cal = 35,6 Cal, 6 g Zucker à 3,95 = 23,7 Cal, im ganzen 79,9 Cal. Indem wir diese Wärmemengen von der Verbrennungswärme des Kotes abziehen, steigt das aus dem Strohmehl resorbierte auf 551,5 + 79,9 = 631,4 Cal. Davon geht ab der Brennwert für Methan 0,317 Cal auf jedes Gramm verdauter Rohfaser = 17,9 Cal. **613,5** Cal bleiben also gegenüber **704,6** Cal aus der Futtermittelanalyse berechnet.

Die calorimetrische Bestimmung bedarf aber noch einer erheblichen Korrektur, weil sie am getrockneten Kote ausgeführt wurde. Bei der Trocknung ist viel Stickstoff offenbar im wesentlichen in Form von Ammoniak und Aminen verflüchtigt. Wir fanden bei der Frischbestimmung auf den Tag 91,39 g Rohprotein, im Trockenkot nur 78,26 g. Die verlorenen 13,13 g Rohprotein entsprechen 2,101 g N oder 2,551 g NH_3.

Die Verbrennungswärme von 1 g NH_3 = 5371 cal[1]),
die Lösungswärme von 1 g NH_3 . . = 4941 cal,
10312 cal × 2,551 =

[1]) Nach Thomsen, vgl. Ostwald, Allg. Chemie II, 1, 139.

26306 cal. Dieser Wert von den oben berechneten 613,5 Cal abgezogen, ergibt als korrigierte Verbrennungswärme 587,2 Cal. Diese Zahl ist um 117,6 Cal niedriger als die aus der Futtermittelanalyse berechnete. Die Abweichung erklärt sich aus der Erfahrung Kellners, daß die N-freien Extraktstoffe und ebenso die Rohfaser[1]) des Kotes eine höhere Verbrennungswärme haben als die der Nahrung. Auf 100 g Strohstaub wurden verdaut nach der indirekten Rechnung 58,72 Cal, nach der richtigeren Verbrennungsanalyse 48,93 Cal.

Noch wäre daran zu denken, daß der Stickstoff nicht nur in Form von Ammoniak, sondern zum Teil wohl auch als kompliziertere Amin entweicht. Die Verbrennungswärme des gasförmigen Dimethylamins ist z. B. 9344 Cal pro Gramm, also für 1 g N = 30034 Cal gegen 6521 Cal bei Verbrennung von NH_3. Im letzteren Falle würden also die entwichenen 2,101 g N die Verbrennungswärme des Kotes um 49401 cal mehr vermindert haben als bei Abspaltung von NH_3. Die Unsicherheit über die Natur der beim Trocknen sich verflüchtigenden N-Verbindungen sollen weitere Versuche klären.

In unseren späteren Versuchen ist dieser Fehler dadurch vermieden, daß ein ausreichender Zusatz von Weinsäure das Entweichen der basischen Verbindungen verhinderte.

Die 15,091 kg Harn der 4 Versuchstage enthielten 17,295 g N (vgl. S. 400). Das Spülwasser enthielt . . . . . . 1,488 g N

Mit dem Harn wurden ausgeschieden . . . . . . 18,783 g N

entsprechend 117,40 g Protein oder 29,35 g Protein auf den Tag. Aus der Tagesnahrung waren verdaut 33,99 g Protein. Es wurden also täglich angesetzt 4,64 g Protein.

Wir wenden uns nun zu den Studien über die Aufschließung der Nährwerte des Strohes durch Cellulose lösende Bakterien. Die Vorarbeiten hierzu hat B. ausgeführt, dessen Protokolle hier im Wortlaut folgen:

---

[1]) Kellner, Ernährung der landw. Nutztiere, 7. Aufl., S. 90. — Bei Wiesenheu betrug der Wärmewert der N-freien Extraktstoffe pro 1 g 4584 cal, im zugehörigen Kot 5265 cal, von Rohfaser hatte 1 g im Futter 4426, im Kot 4782 cal. — Man bekommt also durch die Calorimetrie von Futter und Kot wesentlich genauere Resultate als durch die übliche Futtermittelanalyse.

Zu den Versuchen über die Vergärung der Cellulose stützte ich mich auf die Erfahrungen von Omeliansky, van Iterson jr., Pringsheim, Mac Fadyen und Blaxall, Kroulik, Kellermann und Mc Beth. Als Gärlösung benutzte ich meist die Gärlösung von Omeliansky, die im Liter 1 g $(NH_4)_2SO_4$, 1 g K_2HPO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur NaCl enthält. Ferner auch die von Pringsheim in seinen Versuchen benutzte Gärlösung, die nachstehende Zusammensetzung zeigte: KNO_3 2,5 g. K_2HPO_4 0,50 g ad 1000 ccm Wasser.

Das zu den Versuchen benutzte fein gemahlene Haferstroh wurde 3 bis 4 Stunden bei 105 bis 108° sterilisiert. Die einzelnen Gärungen wurden bei 37°, 45° und 55° angestellt. Als Impfmaterial wurde frischer Pferdekot gewählt. Einzelne Proben wurden auch mit Schlamm aus den Karpfenteichen in Sachsenhausen angesetzt, doch wurden diese Versuche bald aufgegeben, da das entstandene Gärprodukt einen unangenehmen, fauligen Geruch aufwies. Die Versuche wurden sowohl bei Aërobiose als auch bei Anaërobiose ausgeführt, und zwar benutzte ich in letzterem Falle die Pyrogallol-Methode. Nach 24 stündigem Stehen bei den verschiedenen Temperaturen zeigte sich lebhafte Gärung. Die Cellulose resp. das Strohmehl wurde mit der Gärlösung im Verhältnis 1 : 5 gemischt. Doch wurden auch einige Reihen mit anderen Verdünnungen angesetzt, um den Einfluß des Verdünnungsgrades auf die Gärung zu studieren. Von diesen lebhaft gärenden Kulturen versuchte ich Reinkulturen zu erzielen, die ihrerseits wiederum zur Infektion neuer Mengen sterilen Haferstrohs dienten. Ich bemerke, daß bei der Aërobiose die Gärung viel rascher und lebhafter einsetzte als bei Anaërobiose, bei welcher dieselbe gewöhnlich erst nach 3 bis 4 Tagen eintrat. Alle angesetzten Proben wurden der mikroskopischen Untersuchung unterzogen und dabei in allen Fällen ein Bakteriengemisch vorgefunden, und zwar vegetative Formen und Sporen verschiedener Arten, deren Mengenverhältnisse in den einzelnen Proben verschieden waren. Ich konnte fernerhin feststellen, daß die Intensität der Gärung mit der mehrmaligen Überimpfung abnahm und später gar nicht zu vergleichen war mit der ersten Beimpfung mit Pferdekot. Zwecks Abstumpfung der im Laufe des Bakterienwachstums entstehenden flüchtigen Fettsäuren wurde sämtlichen Kulturproben kohlensaurer Kalk zugegeben.

Bei meinen Versuchen bediente ich mich auch der Beobachtungen Omelianskys, der durch Erhitzen auf 75° die Mikroorganismen trennen konnte in solche, die Methangärung hervorrufen, und solche, die Wasserstoffgärung hervorbringen. Durch die Abimpfung und die Erhitzung werden die Keime des Methan bildenden Bacillus vollkommen vernichtet, und nur die Wasserstoffgärung liefernden Bakterien bleiben erhalten. Was die Wachstumseigenschaften desjenigen Mikroben angeht, der hauptsächlich die Lösung der Cellulose bewirkte, so bildete er in jugendlichem Zustande äußerst dünne, gerade Stäbchen, die niemals zu Ketten vereinigt sind. Bei weiterer Entwicklung zeigt sich an einem Ende des Stäbchens eine kaum wahrnehmbare Auftreibung, die nach und nach an Größe zunimmt, dabei eine längliche, später rundliche Form aufweist. Es ist das typische Bild des Trommelschlägels. In alten Kulturen fanden sich fast ausschließlich Sporen mit nur sehr geringer Beimischung vegetativer Formen, die sich gewöhnlich ebenfalls im Zustande der Sporenbildung befanden. Die Färbung des Bacillus gelang sehr leicht mit Fuchsin, mit Methylenblau usw. Auch konnte ich charakteristische Doppelfärbungen mit Carbolfuchsin und mit Methylenblau erhalten. Außer diesen Formen fanden sich noch leicht gekrümmte Stäbchen, die ebenfalls bei weiterer Entwicklung in das Stadium des Trommelschlägels eintraten und schließlich Sporen bildeten. Neben diesen beiden Bakterienarten fanden sich kurze, dicke Stäbchen, mit abgerundeten Enden, oft zu zwei aneinander, oft Fäden von vier Gliedern bildend. Dieselben waren lebhaft beweglich, bildeten Sporen, die als glänzende länglich-runde Körper die ganze Zelle erfüllten.

Ausstrichpräparate von dem gärenden Stroh auf sterilen Kartoffelscheiben zeigten ein charakteristisches, schnell wucherndes Wachstum, zuerst in Form einer feuchten Schicht, später als eine sich in lange Fäden ausziehende zähe Masse von dem Aussehen vielfach verschlungener netzartiger Falten und Runzeln. Auch trat bei diesen Kulturen auf Kartoffelscheiben Sporenbildung ein. Außerdem fanden sich cylindrische Stäbchen, an den Enden abgerundet, welche sich in wackelnder Art und Weise bewegten. Diese Bakterien wuchsen auf sterilen Kartoffeln auf der ganzen Oberfläche als feuchter weißer, rahmartiger Belag. Auch hier-

bei kommt es daselbst zur Sporenbildung. Diese beiden Bacillen wurden ersterer als Bacillus mesentericus, letzterer als Bacillus subtilis erkannt. Dies ist nicht weiter auffallend, da ja zur Reindarstellung von Bacillus subtilis es genügt, ein Heu- oder Strohinfus 4 Stunden lang auf 75° und dann kurze Zeit auf 90° zu erhitzen. Mit den erhaltenen Reinkulturen wurden größere Strohmengen (400 bis 500 g) zur Gärung angesetzt, in einem Falle auch ein praktischer Versuch mit 8000 g gemacht, da der Endzweck aller Versuche doch war, eine höhere Ausnutzbarkeit der Cellulose herbeizuführen und diese durch Tierversuche zu prüfen. Es wurden beispielsweise 400 g Haferstroh mit 2500 g Leitungswasser vermischt, $2^1/_2$ bis 3 Stunden bei 104° gehalten, dann bis 55° abgekühlt, 10 g kohlensaurer Kalk zugegeben und 10 g einer frischen Pferdekotaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung. Das ganze Gärgemisch wurde in einem konstanten Wasserbade bei 55° gehalten. Die Reaktion des Gärgemisches war nach 24 Stunden sauer. Dann wurden nochmals 10 g Kreide hinzugesetzt, ebenso wieder am übernächsten Tage. Sodann wurden in dem Gärgemisch die entstandenen flüchtigen Fettsäuren nach dem Ansäuern mit H_2SO_4 durch Abtreiben mit strömendem Wasserdampf bestimmt und nachstehende Werte erhalten: Gesamtmenge des Destillates 11200 ccm. 100 ccm verbrauchten 10,9 ccm $^n/_{10}$-NaOH entsprechend 7,324 g flüchtige Fettsäuren auf Essigsäure oder 10,743 g auf Buttersäure berechnet. Aus 100 g Haferstroh entstanden 1,831 g Essigsäure bzw. 2,686 g Buttersäure.

Die im Destillat enthaltenen flüchtigen Säuren wurden mit Natronlauge neutralisiert und auf dem Wasserbad zur Trockne verdampft. Die erhaltenen fettsauren Salze wurden in wenig Wasser gelöst, mit Schwefelsäure angesäuert und im Scheidetrichter mehrmals mit Äther extrahiert. Der Äther wurde verdampft und der Rückstand einer fraktionierten Destillation unterworfen. Dabei wurden des öfteren nachstehende Fraktionen erhalten: Fraktion I: Kp. bis 110°, Fraktion II: bis 120°, Fraktion III: bis 140°, Fraktion IV: bis 156° und höher.

Aus den freien Fettsäuren wurden die Bariumsalze in nachstehender Weise dargestellt: Die wäßrige Lösung wurde mit Barythydrat neutralisiert, die Lösung mit Kohlendioxyd

gesättigt, zum Sieden erhitzt und das ausgeschiedene Bariumcarbonat nach dem Erkalten abfiltriert. Das Filtrat wurde zunächst auf freier Flamme und dann auf dem Wasserbade zur Trockne gebracht. Der Rückstand wurde bei 130° getrocknet. Durch Abrauchen mit konzentrierter Schwefelsäure wurde der Bariumgehalt bestimmt. Es wurden nachstehende Werte festgestellt: Fraktion I: Kp. bis 110° 56,80% Ba. Fraktion II: Kp. bis 120° 49,08%. Fraktion III: Kp. bis 150° 45,01% Ba. Fraktion IV: Kp. bis 175° 42,37% Ba. (Essigsaures Ba = 53,78% Ba. Propionsaures Ba = 48,47% Ba. Buttersaures Ba = 44,12% Ba.)

Außer den Barytsalzen wurden auch Silbersalze der Fettsäuren dargestellt. Für das Silbersalz der Fraktion Kp. 105 bis 122° wurden nachstehende Werte gefunden: Gefunden 63,98% Ag. Berechnet für CH_3COOAg 64,05% Ag.

Für die Silbersalze der Fraktionen III Kp. bis 150° fanden sich nachstehende Werte: Gefunden 53,5% Ag. Berechnet für C_3H_7COOAg 55,3%.

Zur Bestimmung der Ameisensäure wurde ein Teil der neutralisierten Lösung der flüchtigen Säuren mit Quecksilberchlorid (50 g $HgCl_2$, 27,5 g Natriumacetat im Liter) versetzt und 6 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt. Hierbei wird das Quecksilberchlorid zu unlöslichem Quecksilberchlorür reduziert und kann, auf einem trockenen und gewogenen Filter gesammelt, getrocknet und gewogen werden. Ein Gewichtsteil Hg_2Cl_2 entspricht 0,0976 Gewichtsteilen Ameisensäure. Im vorliegenden Falle wurden aus 400 g Haferstroh 1,7346 g Quecksilberchlorür entsprechend 0,1692 g Ameisensäure gefunden, aus 100 Teilen Stroh 0,0423 g Ameisensäure.

Die oben mitgeteilten Werte für Buttersäure bzw. Essigsäure gelten nicht für alle Versuche. Es wurden vielmehr erhebliche Schwankungen gefunden, bedingt durch das wechselnde Gemisch der Gärungsorganismen. In einem Falle wurden 400 g Haferstroh mit einer Reinkultur von Bacillus mesentericus 5 Tage bei 55° zur Gärung angesetzt. Dann wurden mit Wasserdampf die flüchtigen Fettsäuren abdestilliert und 8640 ccm Destillat erhalten. 100 ccm desselben verbrauchten 26,4 ccm n/10-NaOH-Lauge, entsprechend 13,686 g flüchtige

Säure auf Essigsäure berechnet aus 400 g Stroh oder 3,42 g Essigsäure aus 100 g Haferstroh.

In einem größeren Versuche wurden 8 kg Haferstroh (gröberer Mahlung) zur Gärung angesetzt mit Faecesbakterien. 50 g des Gärgutes, worin enthalten waren 8,51 g Haferstroh, verbrauchten 10,4 ccm $^n/_{10}$-NaOH. Dieselben lieferten mithin 0,0624 g Säure auf Essigsäure berechnet oder 58,66 g aus den 8000 g Stroh. Bei der Gärung wurden verbraucht 150 g $CaCO_3$. Dieselben sättigten 180 g Essigsäure, insgesamt entstanden durch die Gärung aus 8000 g Haferstroh 58,66 + 180 g, = 238,7 g Säure auf Essigsäure berechnet oder 2,98 g aus 100 g Haferstroh. 2350 g Gärgut lieferten, mit Wasserdampf destilliert, 26 l Destillat. 100 ccm davon verbrauchten 7,1 ccm $^n/_{10}$-NaOH-Lauge, entsprechend 11,076 g flüchtige Säure auf Essigsäure berechnet für 400 g Stroh, die in 2350 g Gärflüssigkeit enthalten waren, oder für 100 g Haferstroh 2,769 g flüchtige Säure als Essigsäure berechnet. 100 g Haferstroh lieferten 2,97 g Gesamtsäure und 2,76 g flüchtige Säure, beides auf Essigsäure berechnet. Weitere Versuche lieferten für 100 g Haferstroh 1,831 g Säuren, darunter 1,056 g flüchtige Säuren, beides auf Essigsäure berechnet. Neben den gasförmigen Produkten Wasserstoff und Methan entstanden durch Reduktion aus den Sulfaten wechselnde Mengen von Schwefelwasserstoff. Häufig entstanden durch die Gegenwart von wilden Hefen wohlriechende Fettsäureester (Geruch nach Erdbeeren).

Die gleichen Versuche wurden mit Birkenholz bzw. mit Coniferenholz angesetzt.

100 g Birkenholz wurden bei 55° mit Faecesbakterien bei Gegenwart von Calciumcarbonat 5 Tage lang vergoren. Dann wurde das Gärgut mit Schwefelsäure angesäuert und mit Wasserdampf destilliert. Es wurden erhalten 6340 ccm Destillat. 100 ccm davon verbrauchten 15,00 ccm $^n/_{10}$-NaOH entsprechend 0,090 g Essigsäure. Mithin lieferten 100 g Birkenholzmehl 5,707 g flüchtige Fettsäuren auf Essigsäure oder 8,378 g auf Buttersäure berechnet.

100 g Birkenholz lieferten bei 37° mit Faecesbakterien vergoren 13040 g Destillat. 100 g verbrauchten 8,6 ccm $^n/_{10}$-NaOH, entsprechend 6,73 g auf Essigsäure bzw. 9,87 g auf Buttersäure berechnet.

100 g Coniferenholz wurden mit Faecesbakterien bei 55° 5 Tage vergoren. Mit Wasserdampf destilliert lieferten sie 9050 ccm Destillat. 100 ccm davon verbrauchten 3,3 ccm $^n/_{10}$-NaOH, entsprechend 1,98 g auf Essigsäure bzw. 2,92 g auf Buttersäure berechnet.

100 g Coniferenholz wurden bei 45° 5 Tage mit Faecesbakterien vergoren. Mit Wasserdampf abgetrieben wurden 10 l Destillat erhalten.

100 ccm sättigten 2,8 ccm $^n/_{10}$-NaOH, entsprechend 1,68 g flüchtige Säure auf Essigsäure berechnet bzw. 2,42 g auf Buttersäure berechnet, entsprechend $2,42 \times 1,51 = 3,66$ g Cellulose.

Die freien Fettsäuren aus dem Birkenholz lieferten nur eine Fraktion von Kp. 140 bis 150°. Das Bariumsalz zeigte einen Ba-Gehalt von 44,32% (0,1982 g Ba-Salz = 0,1496 $BaSO_4$), berechnet für buttersaures Ba 44,12%. Das Coniferenholz lieferte eine Fraktion von Kp. 110 bis 120°. Das Ba-Salz zeigte einen Ba-Gehalt von 53,20%, berechnet für essigsaures Ba 53,78%.

Die vorstehenden Zahlen geben nur einen orientierenden Überblick über die Veränderung der cellulosereichen Materialien durch die Gärungsprozesse. Die Bildung flüchtiger Fettsäuren ist ja der Weg, auf dem diese Stoffe für die Ernährung der Tiere nutzbar gemacht werden. So hat v. Markoff[1]) im Anschluß an unsere Respirationsversuche gezeigt, daß bei der Pansengärung der Wiederkäuer aus 1 Mol Cellulose oder anderer Polysaccharide etwa 0,98 Mol Buttersäure, 0,11 Mol Milchsäure, 1,3 Mol CO_2, 0,3 Mol CH_4 und ein wenig H_2 entstehen; dabei gehen von der Verbrennungswärme der Kohlenhydrate durch Bildung brennbarer Gase 9,85%, in Form von Gärungswärme 6,61% verloren, rund 83% kommen dem Tierkörper mit den resorbierten Säuren zugute.

Halten wir uns an den ersten der obigen Versuche, wo aus 100 g Stroh flüchtige Fettsäuren äquivalent 2,40 g Buttersäure gewonnen wurden, so würden hier etwa 2,5 g Cellulose, d. h. weniger als $^1/_{10}$ der laut Tabelle I S. 393 in 100 g Stroh enthaltenen 27,3 g Rohfaser gelöst worden sein.

In starkem Widerspruch steht diese Bestimmung mit der

---

[1]) Markoff, diese Zeitschr. 57, 61, 1913.

zur Neutralisation der gebildeten Säuren erforderlichen Menge von $CaCO_3$. Sie betrug in diesem Falle 30 g, was 26,4 g Buttersäure, d. h. dem 10fachen der gefundenen Menge entsprechen würde. Wenn auch ein Teil des Kalkes durch die Gärungskohlensäure neutralisiert wurde, so muß doch eine erhebliche Menge nichtflüchtiger organischer Säuren bei der Gärung entstanden sein.

Bei dieser Unsicherheit der analytischen Resultate erscheinen die Verdauungsversuche mit dem gegorenen Stroh notwendig, um die praktische Bedeutung der Strohgärung klarzustellen.

Schwein I. Versuch 2.

Dieser Versuch an Schwein I schloß sich unmittelbar an den S. 393 beschriebenen an, indem das Tier dasselbe Stroh wie bisher, aber 24 Stunden lang mit Pferdefaeces vergoren, erhielt. Auf 2755 g des Strohmehls wurden zur Anregung der Gärung 40 g frischen Pferdekotes mit etwa 12 g Trockensubstanz verwendet. Der Pferdekot wurde nicht analysiert, seine Trockensubstanz dürfte annähernd dem Gewichtsverlust entsprechen, den das Stroh durch die Gärung, die 40 g $CaCO_3$ zur Neutralisation der Säure erforderte, erlitt.

Am 25. II. war dem Futter zwecks deutlicher Kotabgrenrung 1 g Carmin beigemengt worden. Dies beeinträchtigte die Freßlust des Tieres, so daß die quantitative Aufzehrung nur dadurch erzielt werden konnte, daß am anderen Tage dem Futterrest noch 90 g Zucker zugefügt wurden, ohne Darreichung von neuem Stroh oder Kleber.

Aus der Futtermittelanalyse ergibt sich, daß aus dem Strohmehl verdaut waren:

	86,2 g N-freier Extrakt à 4,1	= 353,4 Cal	
	160,4 g Rohfaser . . . à 3,78	= 606,3 „	
			959,7 Cal
abzüglich	81,6 g Protein à 5,7	= 465,1	
	3,7 g Fett à 9,5	= 35,2	500,3 „
			459,4 Cal
			= 16,67 Cal auf 100 g Stroh.

Der Befund von Versuch 3 (S. 415), daß die direkte Calorimetrie eine geringere calorimetrische Ausnutzung ergibt als die

indirekte Wärmebilanz aus der Futtermittelanalyse, bestätigt sich also auch hier.

Futter	Asche	Organ. Substanz	Stickstoff	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freier Extrakt	Calorien
2755 g Strohmehl I .	152,9	2552,0	15,07	94,22	57,6	752,1	1620,5	11484,0
810 g Zucker . . .	2,0	803,0	—	—	—	—	803,0	3179,9
120 g Kleber	3,4	106,2	—	96,86	1,6	—	7,7	598,9
60 g $CaCO_3$	60,0	—	—	—	—	—	—	—
4 g NaCl	4,0	—	—	—	—	—	—	—
Gesamte Einnahme .	222,3	3461,2	—	191,08	59,2	752,1	2423,5	15262,8
2701,8 g[1]) Trockenkot	205,6	2408,3	—	178,72	61,3	591,7	1576,6	11637,2
Abzüglich 50,60 g Weinsäure	205,6	2357,7	—	178,72	61,3	591,7	1526,0	11548,9
Verdaut	16,7	1103,5	—	12,36	— 2,1	160,4	896,9	3713,9
Verdaut aus Zucker u. Kleber[2])	—	906,3	—	93,96	1,6	—	810,7	3762,3
Verdaut aus Strohmehl	—	197,3	—	—81,60	— 3,7	160,4	86,2	— 64,9

Die Harnmenge betrug 2566 g von 1,015 spez. Gewicht = 2528 ccm. In 100 ccm Harn = 332,4 mg N_2. Das Harnspülwasser enthielt 1,376 g N_2 im ganzen; es entspricht also 414 ccm Harn, und die gesamte N-Ausscheidung beträgt mit 2942 ccm Harn = 9,779 g, entsprechend:

Proteinverlust vom Körper . . 61,12 g
Verdaut von der Nahrung . . 12,36 g

Proteinverlust 48,76 g × 4,18 = 203,8 g Fleisch.

Die Verbrennung in der Bombe ergab auf 10 ccm Harn 594,6 resp. 574,0, im Mittel 584,3 cal = 171,9 Cal für den Gesamtharn. Der Energieverlust, den der Körper durch das Strohmehl erlitt, steigt hierdurch von 64,9 auf 236,9 Cal. — Auf 1 g N werden durch den Harn verloren = 17,6 Cal. — Im Hunger und bei rohfaserfreier, leicht verdaulicher Nahrung beträgt der calorische Wert des Harn-N bekanntlich rund 7 Cal. Es hat also der Körper durch die 2755 g Strohmehl einen Extraverlust von 9,779 × 10,6 = 103,7 Cal erlitten, oder mit dem Verlust durch den Kot = 168,6 Cal. 100 g des gegorenen

[1]) Im Kotstandwasser 15,74 g Protein, danach Kotmenge berechnet.

[2]) Zucker als ganz verdaulich gerechnet, aus Kleber verdaulich 97 % des Proteins; Fett und N-freier Extrakt ganz verdaulich. Für 1 g Weinsäure = 1,745 Cal.

Strohmehls entzogen also dem Körper 6,12 Calorien und $\frac{81,6}{27,55} = 2,96$ g Protein.

Schwein I. Versuch 3.

Nach dem ungünstigen Ergebnis dieses Versuches sollte der Einfluß einer längeren Gärung studiert werden. Dasselbe grobgemahlene Haferstroh wurde 3 Tage lang mit 30 g Kuhkot unter Beigabe von 30 g $CaCO_3$ vergoren. In 4 Tagen wurden 2230 g Strohmehl mit 30 g Kuhkot und 30 g $CaCO_3$ unter Beigabe von täglich 1 l Magermilch und 60 bis 90 g Zucker verfüttert. Am 5. Tage (5. März 1915) wurde der Futterrest unter Beigabe von 110 g Rohrzucker verzehrt. Der Kot wog frisch 6160 g, lufttrocken mit Zugabe von 135,5 g Weinsäure getrocknet 1700 g, und enthielt 6,78 % Asche, 89,89 % organische Substanz, 7,25 % Rohprotein[1]), 2,15 % Fett 20,5 % Rohfaser, 430,83 Cal. Das Waschwasser des Stalles enthielt mit den Kotresten 1,935 g N = 12,094 g Rohprotein; da 7,25 g Rohprotein = 100 g Kot, entsprechen die Reste im

Futter	Asche	Organ. Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freier Extrakt	Calorien
2230 g Strohmehl . .	123,8	2065,6	76,27	46,6	608,8	1334,0	9295,3
4 l Magermilch[2]) .	28,0	356,0	160,00	8,0	—	188,0	1730,4
380 g Rohrzucker . .	1,0	376,0	—	—	—	376,0	1489,0
30 g $CaCO_3$	30,0	—	—	—	—	—	—
12 g NaCl	12,0	—	—	—	—	—	—
Gesamte Einnahme .	194,8	2797,6	236,27	54,6	608,8	1898,0	12514,7
1866,8 g Kot	126,6	1678,1	135.34	40,1	382,7	1120,0	8042,7
ab 148,8 g Weinsäure . .	—	148,8	—	—	—	148,8	259,7
Wirklicher Kot . . .	126,8	1529,3	135,34	40,1	382,7	971,2	7783,0
Verdaut	68,0	1268,3	100,93	14,5	226,1	926,8	4731,7
Verdaut aus Milch und Zucker[3])	—	—	144,0	6,5	—	554,6	3023,2
Verdaut aus Stroh . .	—	—	—43,1	8,0	226,1	372,2	1708,5
Verdaut aus 100 g Stroh	—	—	— 1,93	0,36	10,14	16,69	76,61

[1]) Aus dem Proteingehalt des frischen Kotes = 2,00 % berechnet.

[2]) Nach Durchschnittsanalysen angenommen: 0,7 % Asche, 8,9 % organ. Substanz, 4,0 % Rohprotein, 0,2 % Fett, 4,7 % N-freier Extrakt, 432,6 Cal pro Liter; davon unverdaulich: 0,68 % organ. Substanz, 0,4 % Rohprotein, 0,04 % Fett, 0,24 % N-freier Extrakt, 36,1 Cal pro Liter.

[3]) Zucker als voll verdaulich gerechnet; aus Magermilch 90 % Protein, 81 % Fett, 95 % N-freier Extrakt verdaulich.

ganzen 166,81 g Trockenkot, und die Gesamtkotmenge betrug lufttrocken 1866,8 g. Da auf 1700 g Kot 135,5 g Weinsäure zugesetzt waren, fallen auf die 1866,8 g davon 148,8 g.

Die calorimetrische Berechnung aus der Futtermittelanalyse lautet:

Verdaute	372,2 g	N-freier Extrakt	à 4,1	= 1526,0 Cal
„	226,1 g	Rohfaser . . .	à 3,78	= 854,7 „
„	8,0 g	Fett	à 9,5	= 7,6 „
				2388,3 Cal;
ab für ausgeschied.	43,1 g	Rohprotein	à 5,7	= 245,7 „
Der Energiegewinn beträgt hiernach . .				= 2142,6 Cal

= 96,08 Cal auf 100 g Stroh
gegen 76,61 „ „ 100 g „
bei direkter Calorimetrie.

An Harn wurden 5988,5 ccm mit 120,8 mg N in 100 ccm gesammelt . . . . = 7,234 g N;
das Harnspülwasser enthielt . . = 1,005 g N,
also im Harn . . . . = 8,239 g N, entsprechend 6820 ccm entleerten Harns. — Die Verbrennung von 10 ccm Harn lieferte:

434,3 cal
423,5 „
410,6 „
Mittel 422,8 cal.

Der Energieverlust durch den Harn betrug demnach 288,3 Cal; nach Abzug dieser Zahl von der Energie des aus Stroh Verdauten = 1708,5 Cal bleiben 1420,2 Cal oder 63,69 Cal aus 100 g Stroh als physiologischer Nutzwert.

Den 8,239 g N im Harn entspricht ein Verlust von

51,49 g Protein;
verdaut wurden . . 100,93 g „
Das Tier setzte an . . 49,44 g Protein = 206,7 g Fleisch.

Der calorische Quotient des Harns $\left(\frac{\text{Cal}}{\text{N}}\right)$ ist in diesem Falle = 35, eine Zahl, wie man sie sonst nur bei Wiederkäuern, die reichlich Rauhfutter genießen, findet. Nach Abzug des bei leichtverdaulicher Kost zu erwartenden calorischen

Quotienten von 7,0 bleibt als Wirkung des Strohmehls: 28 oder für den Harn der ganzen Periode 230,6 Cal, entsprechend 10,64 Cal auf 100 g verfüttertes Stroh. Da aber nicht das verfütterte, sondern nur das verdaute resp. durch Darmbakterien zersetzte Stroh zum Übertritt unverbrannter Produkte in den Harn Anlaß gibt, setzt man wohl die Harncalorien richtiger mit den aus Stroh resorbierten Calorien oder mit der verdauten Rohfaser in Beziehung. Auf 1708 resorbierte Calorien finden wir 230,6 im Harn, also auf 100 = 13,5 Cal. Bei 226,1 g verdauter Rohfaser kommen auf 100 g derselben 102 Cal im Harn.

Schwein II. Versuch 3.

Da auf der Domäne Dahlem bei Verfütterung von Strohmehl anscheinend bessere Resultate erzielt wurden, als wir erhalten hatten, ließen wir uns von dort Strohmehl kommen. Dasselbe erwies sich, wie die Analyse (S. 393) zeigt, als wesentlich besser gegenüber unserem Mehl, es hatte weniger als die Hälfte Rohfaser und die $2^1/_2$ fache Stickstoffmenge. Die mikroskopische Untersuchung zeigte zahlreiche Stärkekörner. Unzweifelhaft war eine erhebliche Menge Körnermehl in dieses „Strohmehl“ gelangt.

Der Versuch dauerte nach mehrtägiger Vorfütterung 4 Tage (3. bis 6. März 1915).

Der Kot wog frisch 7210 g und enthielt 0,3035 % N = 1,897 % Rohprotein, also im ganzen 136,77 g Rohprotein, und lieferte 1276,6 g lufttrockene Substanz folgender Zusammensetzung: 96,74 % Trockensubstanz, 8,49 % Asche, 88,25 % Organisches, 10,71 % Protein, 2,58 % Fett, 18,03 % Rohfaser, 56,93 % N-freier Extrakt. Zwei Verbrennungen ergaben auf 100 g: 431,79 und 429,09 Cal, im Mittel 430,44 Cal. Die Waschwässer lieferten 1,444 g N = 9,025 g Rohprotein = 84,27 g lufttrockener Kot. Die Kotmenge beträgt also 1276,6 + 84,3 = 1360,9 g.

Zum ersten Male können wir hier, wo erhebliche Mengen zerkleinerter Körner dem Strohmehl beigemengt sind, eine Resorption von Protein feststellen. Auch von den übrigen Nährstoffen mit Ausnahme der Rohfaser wurde wesentlich mehr resorbiert.

Nahrungsbilanz.

Futter	Asche	Organ. Substanz	Roh-protein	Fett	Roh-faser	N-freier Extrakt	Ca-lorien
2050 g Stroh	70,0	1762,6	176,1	56,4	255,4	1274,7	—
120 g Zucker	1	118,0	—	—	—	118,0	—
3 l Magermilch . .	2,1	267,0	120,0	6,0	—	141,0	—
30 g $CaCO_3$	30	—	—	—	—	—	—
4 g Kochsalz . . .	4,0	—	—	—	—	—	—
Gesamte Einnahme .	107,1	2147,6	296,1	62,4	255,4	1533,7	—
1360,9 g Kot	115,5	1201,0	145,8	35,1	245,4	774,8	5857,9
Verdaut	— 8,4	946,6	150,3	27,3	10,0	758,9	—
Verdaut aus Zucker u. Magermilch	—	—	108,0	4,9	—	252,0	—
Verdaut aus Stroh . .	—	—	42,3	22,4	10,0	506,9	—
Verdaut aus 100 g Stroh	—	—	2,07	1,1	0,5	24,7	—

Für das auf 100 g Stroh Resorbierte berechnen sich folgende Calorien:

2,07 g	Protein	à 5,7	= 11,8
1,1 g	Fett	à 9,5	= 10,5
0,5 g	Rohfaser . . .	à 3,78	= 1,9
24,7 g	N-freier Extrakt	à 4,1	= 101,3
			125,5 Cal.

Der gesammelte Harn betrug 4201 ccm mit 164,6 mg N, in 100 ccm, also in 4201 ccm . . . . 6,915 g N.
Das Spülwasser des Harns enthielt . . . . 0,297 g N,

Harnstickstoff = 7,212 g,

entsprechend 4382 ccm Gesamtharn.

Die Verbrennungswärme von 10 ccm Harn = $\begin{cases} 347,1 \\ 367,2 \end{cases}$

Mittel 357,1 cal.

Der Gesamtharn liefert 156,48 Cal, also auf 1 g Stickstoff 21,7 Cal. Rechnen wir wieder 7 Cal auf den Körperumsatz, so hätte das Stroh eine Steigerung um 14,7 Cal pro 1 g N oder um 106,0 Cal im ganzen bedingt. Auf 100 g Stroh fallen 5,2 Cal, auf 100 g aus Stroh verdaute Rohfaser 1060 (?) Cal. Den 7,212 g Harnstickstoff entsprechen 45,1 g zerfallenes Protein. Es wurden also in den 4 Tagen 105,2 g Protein angesetzt.

Schwein II. Versuch 4.

Das im vorigen Versuch geprüfte Dahlemer Stroh wurde 3 Tage lang mit Pferdekot vergoren. Verwendet wurden, wie im vorigen Versuch, 2050 g Stroh mit 30,0 g Pferdekot und 30,0 g $CaCO_3$.

Der Versuch dauerte nur 3 Tage, da das gegorene Stroh mit mehr Lust gefressen wurde. Der Kot wog frisch 6700 g mit 1,913% Rohprotein, enthielt also im ganzen 128,17 g Rohprotein und lieferte beim Trocknen 1080 g lufttrockene Substanz, wovon waren: 95,64% Trockensubstanz, 9,30% Asche, 86,34% organ. Substanz, 11,87% Protein, 3,11% Fett, 17,00% Rohfaser, 54,36% N-freier Extrakt.

Verbrennungswärme $\begin{Bmatrix}4261,4\\4227,3\end{Bmatrix}$ Mittel 424,44 Cal auf 100 g.

Das Kotwaschwasser enthielt 1,083 g N = 6,77 g Rohprotein = 57,03 g Trockenkot.

Wir haben also im ganzen 1137 g Trockenkot. Den nicht analysierten Pferdekot vernachlässigen wir.

Futter	Asche	Organ. Substanz	Rohprotein	Fett	Rohfaser	N-freier Extrakt	Calorien
Futter wie im vorigen Versuch	107,1	2147,6	296,1	62,4	255,4	1533,7	—
1137 g Trockenkot . .	105,7	981,7	135,0	35,4	193,3	618,1	4825,9
Verdaut	1,6	1165,9	161,1	27,0	62,1	915,6	—
„ aus Beifutter .	—	—	108,0	4,9	—	252,0	—
Verdaut aus 2050 g gegorenem Stroh . .	—	—	53,1	22,1	62,1	663,6	—
Verdaut aus 100 g Stroh	—	—	2,59	1,08	3,03	32,37	—

Die Verdauung aller Nährstoffe, auch der im vorigen Versuch besonders schlecht ausgenutzten Rohfaser, ist hier wesentlich verbessert.

Der calorische Wert des auf 100 g Stroh Verdauten berechnet sich:

2,59 g	Protein	à 5,7	= 14,8 Cal
1,08 g	Fett	à 9,5	= 10,3 „
3,03 g	Rohfaser . . .	à 3,78	= 11,5 „
32,37 g	N-freier Extrakt	à 4,1	= 132,7 „
			169,3 Cal.

Beachtenswert ist noch, daß, trotzdem das Futter sogar durch Zusatz von 30 g Pferdekot als Ferment vermehrt war, die Kotmenge von 1360,9 g auf 1137 g gesunken ist. Die bessere Resorption prägt sich auch in der Verbrennungswärme des Kotes aus, die in Versuch II 3 430,44 Cal auf 100 g Kot, in Versuch II 4 nur 424,44 Cal betragen hat.

Es wurden 5,69 kg = 5617 ccm Harn gesammelt; in

100 ccm = 206,8 mg N, im ganzen . . . . . . 11,616 g N.
Die Spülung des Harns lieferte . . . . 1,005 g N,
im ganzen 12,621 g N

entsprechend 78,88 g Protein.

Da 161,1 g Protein verdaut wurden, beträgt der Ansatz 82,2 g.

Die Verbrennungswärme von 10 ccm Harn war:

$$\left.\begin{matrix}340{,}2\\313{,}8\end{matrix}\right\}\ 327{,}0\ \text{cal.}$$

Den 12,621 g Harnstickstoff entsprechen 6103 ccm Harn und 199,57 Cal. Auf 1 g Harnstickstoff 15,80 Cal. Nach der Erwägung S. 395 entfallen auf das Stroh 7,8 Cal pro 1 g Stickstoff, im ganzen also auf die 2050 g Stroh 98,44 Cal oder 4,80 Cal auf 100 g Stroh. Auf 100 g verdaute Rohfaser 158 Cal.

Schwein II. Versuch 5.

2. bis 7. Juni 1915.

Das S. 391 beschriebene Strohmehl von mäßiger Feinheit (durch die Sichtmaschine vom Gröbsten befreit, andererseits auch frei von den allerfeinsten Teilen [Flugstaub]), wurde mit seinem 5fachen Gewicht Wasser zur Gärung angesetzt und gor 5 Tage bei 52 bis 55°. In einer Kontrollprobe wurden die gebildeten flüchtigen Fettsäuren als äquivalent 8,138 g Buttersäure auf 400 g Strohmehl festgesetzt. Hieraus läßt sich der Verlust an organischer Substanz beim Gären auf Grund der Versuche von Markoff[1]) berechnen. Im Mittel von Markoffs Versuchen entstehen bei Methangärung aus Kohlenhydraten neben 144,2 mg Buttersäure 73,89 mg Gase (CH_4 und CO_2). Den 8,14 g Buttersäure im obigen Versuch entsprechen also 4,171 g entwichener

[1]) Diese Zeitschr. 57, 38.

Gase, und wir hätten auf 100 g Stroh einen gasförmigen Verlust von organischer Substanz im Gewicht von 1,043 g oder auf die Tagesportion von 1095,7 g Trockensubstanz einen Verlust von 11,43 g. Die verfütterte Substanz entspricht also 1107,1 g Stroh.

Nun ist aber die Trockensubstanzbestimmung in dem vergorenen Futter leider etwas unsicher, weil nur noch ein sehr geringer Rest, von dem nicht absolut sicher gesagt werden kann, daß er eine genaue Durchschnittsprobe darstellt, zur Analyse übrig war. Wenn bei der Gärung nur die eben berechnete Menge Substanz verloren gegangen wäre, müßte resultieren ein Sauerfutter von 16,48 % Gehalt. Mit dieser Zahl stimmen befriedigend einige Trockensubstanzbestimmungen, die im Laufe des Versuchs gemacht wurden und im Mittel 16,13 % Trockensubstanz ergaben. Da die Rechnung mit dem ursprünglich verwendeten Strohmehl die sicherere ist, wollen wir uns an diese halten.

Die Analyse des lufttrockenen Sauerfuttes ergab:

Trocken-substanz	Asche	SiO_2	Organ. Subst.	Roh-protein	Rohfett	Roh-faser	N-freier Extrakt	Cal
95,54	11,80	5,43	83,74	3,625	2,98 } 10,50 } 13,48[1]	30,69	35,94	4044,8
Die des luftrockenen Kotes:								
92,89	11,73	5,09	81,16	5,938[2])	3,78	23,96	—	4147,3
In 100 ccm Milch:								
—	—	—	—	3,188	3,50	—	—	—

Es wurde täglich die Stickstoffausscheidung im frischen Kot bestimmt:

[1]) Nach dem Ansäuern der mit Äther extrahierten Substanz wurden noch 10,50 % Ätherextrakt gewonnen; offenbar die an Kalk gebundenen Gärungssäuren.

[2]) Die Analyse des lufttrockenen Kotes ergab zwar nur 0,950 % N = 5,938 % Protein, da aber im Frischkot, der 930 g lufttrockene Substanz lieferte, 12,005 g N gefunden wurden, war der wirkliche 100 g Trockenkot entsprechende N-Gehalt = 1,291 g entsprechend 8,069 g Rohprotein. Die im Trockenkot fehlende Menge wurde im Kondensat der Kottrocknung wiedergefunden.

1. Tag	12,58 g	in 4890 g	Frischkot	= 980 g	lufttrocken
2. „	8,11 g	„ 2740 g	„	= 564 g	„
3. „	17,22 g	„ 5980 g	„	= 1080 g	„
4. „	11,22 g	„ 5740 g	„	= 972 g	„
5. „	11,24 g	„ 5590 g	„	= 924 g	„
6. „	11,66 g	„ 5590 g	„	= 1060 g	„
Mittel:	12,005 g	in 5088 g	Frischkot	= 930 g	lufttrocken.

Das in der üblichen Weise gewonnene Kotstandwasser lieferte im ganzen 4,018 g N. Das macht pro Tag 0,67 g N. Zum Gehalt des frischen Kotes addiert, ergibt dies eine tägliche N-Ausscheidung von 12,675 g. Da dem frischen Kot mit 12,005 g N 930 g lufttrockener Kot entsprechen, kommen auf die 12,675 g N 981,9 g lufttrocken. Die Zeit von der ersten bis zur letzten Kotaufsammlung wich nur so wenig von 6 mal 24 Stunden ab, daß eine besondere Korrektur dafür nicht anzubringen ist.

Auf Grund der vorstehenden Daten kommen wir nun zu folgender Verdauungsbilanz, wobei wir für das Unverdauliche aus Milch und Zucker Mittelwerte einsetzen:

Futter	Asche	Organ. Substanz	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	N-freier Extrakt	Calorien
1095,7 g Sauerfutter	129,3	917,6	39,72	147,8	336,3	393,8	4432
2 l Milch	—	225,8	63,76	70,0	—	92,0	2565
300 g Rohrzucker	3,0	296,0	—	—	—	296,0	
100 ccm Salzlösung	5,0	—	—	—	—	—	—
Gesamte Einnahme	137,3	1439,4	103,48	217,8	336,3	781,8	6997
981,9 g Kot	115,2	796,8	78,78	37,1	235,3	445,6	4072
Verdaut	22,1	1642,6	14,7	180,7	101,0	336,2	2925
Verdaut aus Milch u. Zucker	—	—	60,0	68,6	—	382,5	2245
Verdaut aus Stroh	—	—	—45,3	112,1	101,0	46,3	680
Verdaut aus 100 g Stroh	—	—	— 4,41	10,23	9,22	4,22	62,06

Zur Berechnung der Energie aus den resorbierten Nährstoffen müssen wir bedenken, daß von den 13,48 % Rohfett des gegorenen Strohmehls nur 2,98 % wirkliches Fett und 10,50 % ätherlösliche Säuren waren. Letztere sind wohl an erster Stelle resorbiert worden. Wir rechnen daher, da im Tagesfutter 115 g dieser Säuren waren, das resorbierte Fett

mit der Verbrennungswärme der Buttersäure = 5,96 Cal pro 1 g und haben so:

9,22 g Rohfaser Extrakt	à 3,78 Cal		=	34,9 Cal
10,23 g Fettsäure . . .	à 5,96 „		=	61,0 „
				95,9 Cal.
Ab 4,41 g Rohprotein	à 5,7 = 26,3			
„ 4,22 g N-fr. Extr.	à 4,0 = 16,9	„	=	43,2 „
				52,7 Cal.

Der Unterschied der berechneten und durch die Verbrennung gefundenen Energie liegt hier in der umgekehrten Richtung wie sonst, wohl weil die Verdauung des N-freien Extraktes negativ war. In Wirklichkeit ist das Ergebnis der direkten Verbrennung noch zu klein, weil diesmal der Kot ganz ohne Weinsäurezusatz getrocknet wurde, um die Verluste durch Verflüchtigen der Fettsäuren zu vermeiden. Um so größer war der Verlust in Form von Ammoniakverbindungen. Die direkte Analyse des lufttrockenen Kotes ergab 5,938 % Rohprotein = 58,31 g auf die Tagesportion, während wir auf Grund der Bestimmung im frischen Kot oben 78,78 g angesetzt hatten. Es sind also beim Trocknen täglich 20,47 g Rohprotein verflüchtigt. Diese Mengen wurden in der Schwefelsäure, die dem Vakuumtrockenschrank vorgelegt war, fast restlos wiedergefunden. Das getrocknete Viertel des Kotes lieferte 4,698 g N, also der gesamte Kot 18,792 g N = 3,232 g N oder 20,2 g Rohprotein pro Tag. Nach den Ausführungen S. 403 ergibt sich der Verlust an Brennwärme mit 3,232 g N zu 33,3 Cal, wenn wir annehmen, es sei nur NH_3 entwichen. Wenn aber das Verflüchtigte Dimethylamin war, so war der Verlust = 97,1 Cal. Die aus Strohmehl verdauten Calorien betragen nach der ersteren, wahrscheinlicheren Annahme 680 — 33,3 = 646,7 Cal, das macht auf 100 g Strohmehl = 59,0 Cal gegen 52,7 Cal aus der Futtermittelanalyse. Erstere Zahl entspricht auch hier sicher mehr den Tatsachen.

Die täglichen Harnmessungen lieferten folgende Daten:

1.	3424 ccm	mit	4,570 g N
2.	2221 „	„	4,187 „ N
3.	3635 „	„	3,379 „ N
4.	4076 „	„	4,671 „ N
5.	2791 „	„	3,742 „ N
6.	5797 „	„	7,860 „ N
Ges. Harn	21944 ccm	mit	28,409 g N
Tagesmittel	3657 „		

Das Harnspülwasser lieferte . . 1,395 g N

Der gesamte Harn . . . . . 29,804 g N

Tagesmittel . . . . 4,967 g N, entsprechend
31,04 g Rohprotein.

Hiervon gehen ab die verdauten . . 14,70 „ „

Der Körper hat also täglich eingebüßt 16,34 g Protein.

Die Verbrennungswärme des Harns wurde hier nicht bestimmt. Rechnen wir sie im Mittel der zwei letzten Versuche zu 19 Cal pro 1 g N, so wäre der tägliche Energieverlust mit dem Harn = 94,1 Cal, wovon (19 — 7) 4,97 = 59,6 Cal dem Strohmehl zur Last fallen. Dessen physiologischer Nutzwert wäre also unter Berücksichtigung des NH_3-Verlustes beim Kottrocknen nur 646,7 — 59,6 = 587,1 Cal oder auf 100 g Strohmehl = 53,6 Cal.

Kapitel 2. Der respiratorische Stoffwechsel bei Fütterung mit Strohmehl.

Von den beiden im Tierphysiologischen Institut vorhandenen Respirationsapparaten ist der eine zur Unterbringung der 20 bis 50 kg wiegenden Versuchsschweine zu klein, der andere zu groß, um mit diesen Tieren hinreichend genaue Resultate zu liefern, besonders wenn die Respirationsversuche Zeiträume von nur 2 bis 8 Stunden umfassen sollen, wie dies beim Studium der Verdauungsarbeit wünschenswert ist.

Wir haben deshalb die im vorigen Jahre aufgestellte Glocke zum Studium der Atmung in verdünnter und verdichteter Luft diesen Versuchen angepaßt. In die nicht ganz 8 cbm fassende Glocke wurde in mittlerer Höhe der Käfig für das Schwein nebst Futtertrog eingebaut. Nach den ersten Versuchen erwies es sich als notwendig, die Muskeltätigkeit des Tieres, die bekanntlich starken Einfluß auf den Gaswechsel hat, zu kon-

trollieren. Zu diesem Zwecke wurde auf den Boden des Tierkäfigs ein zweiter Holzboden gelegt, der auf vier Gummistopfen ruhte. Unter die Mitte dieses beweglichen Fußbodens legten wir eine luftgefüllte Gummiblase, die durch Schlauchleitung mit einer außerhalb der Respirationskammer aufgestellten Schreibkapsel verbunden war. Bei Beginn des Versuchs wurde die Gummiblase durch eine Nebenleitung am Schlauch derart aufgeblasen, daß sie dem beweglichen Fußboden fest anlag. Der Schreibhebel der Kapsel registrierte nun jede auch leiseste Bewegung des Tieres auf einem durch Uhrwerk bewegten Papierstreifen, auf dem eine zweite Feder jede Minute eine Marke machte. Die Einrichtung entspricht der zuerst von Benedict in Boston und von Schloßmann bei Respirationsversuchen verwendeten.

Als vollkommen einwandfrei für das Studium der Verdauungsarbeit können nur solche Versuche gelten, in denen der Schreiber fast während der ganzen Versuchszeit eine gerade Linie zeichnete, das Tier also ruhig lag. Das war nur in den Nachtstunden zu erzielen. — Die Wirkung der auch in solchen guten Versuchen zur Beobachtung kommenden geringen Bewegungen ist aus der Steigerung des Gaswechsels in Versuchen mit lange dauernder Unruhe abzuleiten. —

Eine kräftig wirkende Kolbenluftpumpe setzte uns instand, die Luft in der Glocke binnen weniger Minuten vollständig durch Frischluft aus dem Freien zu ersetzen. So war es möglich, das Tier beliebig lange vor dem Beginn des Versuchs behufs Gewöhnung in der Glocke verweilen zu lassen und doch bei Beginn der Messung normale atmosphärische Luft in derselben zu haben. Während des Versuchs wurde die Luft in der Glocke nicht erneut, es fand auch keine Absorption der Kohlensäure statt; die Glockenluft wurde nur durch einen im Innern ständig tätigen kräftigen Flügelventilator derart durchgemischt, daß gleiche Zusammensetzung an allen Stellen der Glocke gesichert war. So stieg der Kohlensäuregehalt der Glockenluft bis zum Ende des Versuchs im extremsten Falle bis auf 1,5 % und der Sauerstoffgehalt sank bis auf 19,3 %. Versuche von Benedict am Menschen haben gezeigt, daß derartige Änderungen der Atemluft, auch wenn sie 24 Stunden und länger anhalten, im Gegensatz zu vielfach herrschenden

Anschauungen weder das subjektive Wohlgefühl noch die Größe des Stoffwechsels irgendwie beeinflussen. Das gleiche fanden wir in Versuchen am Rinde selbst dann, wenn die Kohlensäure in der Respirationskammer 2 $^0/_0$ überstieg und der Sauerstoffgehalt bis auf 16 $^0/_0$ erniedrigt wurde[1]). So war die Technik der Versuche sehr einfach, es brauchte nur je eine am Anfang und am Schluß des Versuchs aus der Kammer entnommene Luftprobe möglichst scharf auf ihre Zusammensetzung untersucht zu werden. Am Anfang und am Schluß des Versuchs wurde außer dem Barometer noch ein mit der Kammer kommunizierendes Wassermanometer sowie ein trockenes und ein befeuchtetes Thermometer, die sich hinter einem Fenster im

---

[1]) Wir wissen, daß schon eine geringe Steigerung im CO_2-Gehalt des Blutes die Lungenventilation steigert und durch die damit verbundene Muskelarbeit den Gaswechsel erhöht. Diese Erhöhung der Lungenventilation ist selbst bei dem höchsten in unseren Versuchen einmal beobachteten Kohlensäuregehalt der Kastenluft (1,5 $^0/_0$) nur unbedeutend, wie aus folgender Überlegung hervorgeht: bei einer Ausscheidung von 200 ccm CO_2 in der Minute pflegt die Lungenventilation des Menschen mehr als 5 l zu betragen. Wir hatten dann bei einem normalen CO_2-Gehalt der Inspiration von 0,04 $^0/_0$ in der Minute eingeatmet

$50 \times 0{,}04 =$	2,00 ccm CO_2
vom Körper geliefert . . .	200,00 „ „
in der Minute ausgeatmet .	202,00 ccm CO_2
in 100 ccm Atemluft . . .	4,04 „ „ .

Bei 1,5 $^0/_0$ Kohlensäure in der Inspirationsluft würde diese bei unveränderter Atemmechanik liefern

$50 \times 1{,}5 =$	75,0 ccm CO_2
der Körper liefert	200,0 „ „
in der Minute ausgeatmet .	275,0 ccm CO_2
in 100 ccm Ausatmungsluft	5,5 „ „ .

Steigt jetzt unter dem Reiz der höheren CO_2-Tension die Atmung nur um 2 l, so haben wir

in der Inspirationsluft $70 \times 1{,}5 =$	105,00 ccm CO_2
vom Körper geliefert	200,00 „ „
in der Minute ausgeatmet	305,00 ccm CO_2
in 100 ccm Ausatmungsluft . . .	4,36 „ „ .

Die Lungenventilation kann also in unseren Versuchen nicht um mehr als 2 l pro Minute wachsen, das würde eine Steigerung des O-Verbrauchs um etwa 10 ccm pro Minute bedingen.

Innern der Glocke befanden, abgelesen. Mit Hilfe dieser Daten wurde die Glockenluft auf die Normalbedingungen reduziert. Die doppelte Tür der Glocke konnte mit Hilfe von eingelegten Gummistreifen und Fettung befriedigend gedichtet werden.

Die Kontrolle hierüber und zugleich die Daten zur Berechnung und Korrektur der kleinen unvermeidlichen Undichtigkeiten lieferte die Stickstoffbestimmung. Die Menge dieses Gases wird bekanntlich durch den Atemprozeß nicht geändert; nur scheinbar nimmt sie zu infolge der Ausscheidung brennbarer Gase (CH_4 und H_2), die bei unserer Analyse (Absorption des Sauerstoffs durch Phosphor) vom Stickstoff nicht getrennt werden. — Wir haben bei späteren Versuchen auch die brennbaren Gase bestimmt, einstweilen können wir ihre Menge mit ausreichender Genauigkeit auf Grund der Respirationsversuche von von der Heide und Klein und der Gärungsversuche von Markoff abschätzen.

Wir rechnen danach auf 100 g verdauter Cellulose 6,237 l $CH_4 + H_2$.

In Versuch II 1 S. 396 (feinst gemahlenes Stroh) wurden pro 100 g Strohmehl verdaut 11,4 g Rohfaser, die nach obigem 0,71 l CH_4 liefern würden. Bei der größten aufgenommenen Menge von 1200 g Strohmehl pro Tag hätten wir also in 24 Stunden 8,5 l, in einem 3 stündigen Versuch etwa 1 l CH_4 zu erwarten. Diese Zahl liegt fast an der Fehlergrenze unserer Stickstoffbestimmungen. Wir müssen bei diesen auf eine Unsicherheit von 0,01 % = 0,7 bis 0,8 l im Inhalt der Glocke rechnen.

Daß dieser Fehler meist nicht erreicht wird, ergibt sich aus den folgenden zum Nachtversuch vom 24. zum 25. April gehörigen Analysenzahlen[1]). Wie bei allen Versuchen wurden von jeder Gasprobe 6 Analysen gemacht und daraus das Mittel gezogen. — Bei Kohlensäure und Stickstoff ist neben jedem Analysenwert seine Abweichung vom Mittel angegeben, um aus der Fehlersumme die wahrscheinliche Unsicherheit des Resultats zu berechnen.

---

[1]) Diese Analysen wie auch die nächtliche Überwachung der Versuche führte von der Heide aus.

Anfangsanalyse: Gas über Wasser gesammelt.

	Abweichung vom Mittel			Abweichung vom Mittel
0,25 % CO_2	+ 0,01	20,57 % O	79,18 % N	— 0,04
0,26 " "	+ 0,02	20,50 " "	79,24 " "	+ 0,02
0,24 " "	0,00	20,57 " "	79,19 " "	— 0,03
0,24 " "	0,00	20,52 " "	79,24 " "	+ 0,02
0,21 " "	— 0,03	20,53 " "	79,26 " "	+ 0,04
0,24 " "	0,00	20,55 " "	79,21 " "	— 0,01
0,24 % CO_2	± 0,00378	20,54 % O	79,22 % N	± 0,0086, resp. ± 0,0087 [1])

Nach 2 ½ Stunden Gas über Hg gesammelt.

0,78 % CO_2	+ 0,028	19,99 % O	79,23 % N	— 0,028
0,76 " "	+ 0,008	19,98 " "	79,26 " "	+ 0,002
0,77 " "	+ 0,018	19,99 " "	79,24 " "	— 0,018
0,72 " "	— 0,032	20,00 " "	79,28 " "	+ 0,022
0,76 " "	+ 0,008	20,01 " "	79,23 " "	— 0,028
0,72 " "	— 0,032	19,97 " "	79,31 " "	+ 0,052
0,752 % CO_2	± 0,00794	19,99 % O	79,258 % N	± 0,000945 ± 0,000958 [2])

Schluß.

1,03 % CO_2	— 0,005	19,72 % O	79,25 % N	0
1,03 " "	— 0,005	19,70 " "	79,27 " "	+ 2
1,04 " "	+ 0,005	19,72 " "	79,24 " "	— 1
1,03 " "	— 0,005	19,70 " "	79,27 " "	+ 2
1,04 " "	+ 0,005	19,75 " "	79,21 " "	— 4
1,04 " "	+ 0,005	19,70 " "	79,26 " "	+ 1
1,035 % CO_2	± 0,00189	19,715 % O	79,25 % N	± 0,0063

Zur Feststellung der durch das Strohfutter bedingten mechanischen Verdauungsarbeit erhielt Schwein I am 6. März 1915 früh nur das neben dem Strohmehl gegebene Beifutter 1 l Magermilch + 30 g Zucker. Tiergewicht 17,25 kg. Der Versuch begann am 6. März vorm. 9^h 54′ und endete abends 5^h 54′, jedesmal mit Ablesung des Luftdrucks, des trockenen und feuchten Thermometers im Innern des Kastens und der mano-

[1]) Der wahrscheinliche Fehler der N-Bestimmung berechnet sich

nach der Formel $0{,}8453 \frac{[(v)]}{n\sqrt{n-1}}$ zu ± 0,00862

" " " $0{,}6745 \sqrt{\frac{[v^2]}{n(n-1)}}$ " ± 0,00871.

Beide Rechnungen stimmen so gut überein, daß man hier die bequeme erstere anwenden kann.

[2]) Fehlerrechnung nach der ersten Formel.

metrischen Differenz zwischen Luftdruck im Zimmer und im Kasten.

Bar. vorm. 9h 54′ . . .	746,37 mm	Temp. im Resp.-Kasten 19,7°
Wasserdampfspannung .	8,60 „	
Gasdruck	737,77 mm	
Bar. nachm. 5h 54′ . .	747,23 mm	Temp. im Resp.-Kasten 20,6°
Wasserdampfspannung .	15,97 „	
Gasdruck	731,26 mm	

Mit diesen Zahlen berechnet sich das nach Abzug des Tiervolumens auf 7,94 cbm geschätzte Gasvolumen des Kastens zu 7173,2 l am Anfang und zu 7087,8 l am Schluß des Versuchs.

Die Analyse der Anfangsluft ergab:

0,16% CO_2 20,50% O_2 . 79,34% N_2.

Die Analyse der Endluft ergab:

1,31% CO_2 19,19% O_2 79,50% N_2.

Demnach Zusammensetzung der Luft des Kastens:

Anfangs . .	11,48 l CO_2	1470,51 l O_2	5691,22 l N_2
Am Schluß	92,85 l „	1360,15 l „	5634,80 l „
Differenz .	81,37 l CO_2	110,36 l O_2	56,42 l N_2.

Da mit 1 l N_2 der Kastenluft 0,25 l O_2 und 0,092 l CO_2 entwichen sind, berechnet sich das ausgetretene O_2 zu 14,1 l, das CO_2 zu 0,52 l. Es wurden also 81,89 l CO_2 ausgeatmet, **96,26** l O_2 eingeatmet.

Bei einem Tiergewicht von 17,25 kg und 480 Min. Versuchsdauer berechnet sich der Gaswechsel pro kg Tier und 1 Min. zu 9,89 ccm CO_2 und 11,62 ccm O_2.

Versuch 2.

Schwein I erhielt am Tage nach obigen Versuch 1 l Magermilch, 90 g Zucker und 400 g feines Strohmehl; am 8. März 1 l Magermilch, 45 g Zucker und 400 g feines Strohmehl.

Unmittelbar nach dem Fressen begann der 8stündige Respirationsversuch mit folgendem Ergebnis[1]):

Anfangs	5,8 l CO_2	1510,0 l O_2	5795,0 l N_2
Am Schluß . . .	105,2 l „	1400,0 l „	5780,0 l „
Differenz . . .	99,4 l CO_2	110,0 l O_2	15,0 l N_2
Korrektur für N_2 .	+ 0,1 l „	— 4,0 l „	
Korrigiert (8 Stdn.)	99,5 l CO_2	106,0 l O_2.	

[1]) Die Analysendaten dieses Versuchs sind abhanden gekommen; die Rechnung war aber wiederholt kontrolliert.

Tiergewicht 20,2 kg,
also pro 1 kg und 1 Min.: 10,27 ccm CO_2, 10,93 ccm O_2;
Resp.-Quot. 0,939.

Versuch 3.

Schwein II. 9. März 1915. Futter unmittelbar vor Beginn des Versuchs im Respirationsapparat gefressen:

1 l Milch, 45 g Zucker und 400 g feinstgemahlenes Stroh.

Bar. Anfang vorm. 10h	765,44 mm	Temp. im Kasten 18,8°.
Wasserdampfspannung	8,00 „	
Gasdruck	757,44 mm	
Am Schluß nachm. 6h 10′	765,9 mm	Temp. im Kasten 21,2°.
Wasserdampfspannung	15,5 „	
Gasdruck	750,4 mm.	

Gasprobe zu Beginn	0,20 % CO_2	20,547 % O_2	79,253 % N_2
„ am Schluß	1,182 „ „	19,373 „ „	79,445 „ „ .

Aus obigen Daten und dem Kasteninhalt (7,94 l) ergibt sich:

Anfangs	14,81 l CO_2	1521,2 l O_2	5867,2 l N_2
Schluß nach 490 Min.	85,98 l „	1409,3 l „	5779,1 l „
	71,17 l CO_2	111,9 l O_2	— 88,1 l N_2
Korrekt. f. ausgetr. N_2	+ 0,65 l „	— 22,2 l „	
	71,82 l CO_4	89,7 l O_2.	

Tiergewicht 21,4 kg,
also für 1 kg und 1 Min.: 6,85 ccm CO_2, 8,55 cm O_2,
Resp.-Quot. 0,801.

Der niedrige Resp.-Quot. erklärt sich daraus, daß das Tier an den vorhergehenden Tagen nur je 30 g Zucker und 1 l Milch erhalten hatte.

Versuch 4.

Wieder Schwein II. 10. März 1915. Dasselbe Futter, aber ohne Stroh.

Bar. vorm. 10h	764,84 mm	Temp. im Kasten 19,3°, Kastenvolumen von 7,940 ccm reduz. 7390 l
Wasserdampfspannung	7,5 „	
Gasdruck	757,34 mm	
Am Schluß nachm. 6h	762,82 mm	Temp. im Kasten 21,8°, Kastenvolumen reduziert 7235 l.
Wasserdampfspannung	14,98 „	
	747,84 mm.	

Gasprobe zu Beginn	0,19 % CO_2	20,545 % O_2	79,265 % N_2
„ am Schluß	1,174 „ „	19,341 „ „	79,485 „ „

Hieraus ergibt sich die Gasmenge:

Zu Beginn	14,04 l CO_2	1518,2 l O_2	5857,5 l N_2
Nach 480 Min. . .	84,94 l „	1399,3 l „	5750,7 l „
Änderung	+ 70,90 l CO_2	— 118,9 l O_2	— 106,8 l N_2
Mit N_2 ausgetreten	+ 0,90 l „	— 26,8 l „	
Geatmet.	71,80 l CO_2	92,1 l O_2	R.-Q. 0,775.

Tiergewicht 20,5 kg,

also für 1 kg und 1 Min.: 7,297 ccm CO_2, 9,360 ccm O_2.

Versuch 5.

Schwein II. 17. März 1915. Das Tier war vom 10. bis zum 15. März abends mit Kartoffeln und Küchenabfällen gefüttert worden: es erhielt am 16. März früh 300 g feingemahlenes Stroh, 60 g Zucker und 0,5 l Magermilch; es fraß dann am Abend von $10^h 25'$ bis $11^h 17'$ wieder 400 g Strohmehl, 1 l Magermilch und 45 g Zucker; am 17. März wurde es um $5^h 30'$ gewogen (22,5 kg) und in die Respirationskammer gebracht; hier erhielt es um $6^h 15'$ 1 l Magermilch und 30 g Zucker, die sofort gefressen wurden; dann wurde die Kammer geschlossen und um $8^h 16'$ die Gasprobe für den Anfang genommen, sowie Thermometer und Barometer abgelesen.

Der Versuch begann also 2 Stunden nach der letzten Mahlzeit und 9 Stunden nach Aufnahme von 400 g Strohmehl.

Die Daten für die Reduktion des Gasvolums sind:

$8^h 16'$	752,77 mm	Temp. im Kasten 17,8°,
Wasserdampfspannung .	8,00 „	reduziertes Volumen 7308 ccm.
Gasdruck	744,77 mm	
Schluß $4^h 16'$	751,48 mm	Temp. im Kasten 21,1°,
Wasserdampfspannung .	15,50 „	reduziertes Volumen 7139,7 ccm.
Gasdruck	735,98 mm.	

Gasprobe zu Beginn	0,283 % CO_2	20,562 % O_2	79,155 % N_2
„ am Schluß	1,427 „ „	19,313 „ „	79,260 „ „

Hieraus berechnen sich folgende Gasmengen:

Anfangs	20,68 l CO_2	1502,7 l O_2	5784,9 l N_2
Nach 480 Min. . .	101,88 l „	1378,9 l „	5658,9 l „
	81,20 l CO_2	123,8 l O_2	126,0 l N_2
Mit N_2 ausgetreten	+ 1,38 l „	— 31,7 l „	
Geatmet	82,58 l CO_2	92,1 l O_2	R.-Q. 0,897.

Tiergewicht 22,5 kg,

also für 1 kg und 1 Min.: 7,65 ccm CO_2, 8,53 ccm O_2.

Versuch 6.

Schwein I. Gewicht 30 kg. 15. April 1915. Das Tier, das in letzter Zeit mit Kartoffelabfällen gefüttert worden war, erhielt in der Respirationskammer 400 g feingemahlenes Stroh, 45 g Zucker und 1 l Vollmilch. Während des Fressens begann der Versuch um 9^h 15′ vorm. und dauerte bis 11^h 50′ = 155 Minuten. Kurz vor Schluß war alles aufgefressen.

Bar. 9^h 15′	762,12 mm	Temp. im Kasten 19,8°,
Wasserdampfspannung .	10,20 „	reduziertes Luftvolumen 7296 l.
Gasdruck	751,92 mm	
11^h 50′	762,50 mm	Temp. im Kasten 23,0°,
Wasserdampfspannung .	15,86 „	reduziertes Luftvolumen 7166,2 l.
	746,64 mm.	

Gasprobe zu Beginn	0,10 % CO_2	20,55 % O_2	79,35 % N_2
„ am Schluß	0,583 „ „	20,11 „ „	79,315 „ „ .

Hieraus Gasmenge:

Anfangs	7,30 l CO_2	1499,31 l O_2	5789,38 l N_2
Schluß	41,78 l „	1441,13 l „	5683,30 l „
	34,48 l CO_2	58,18 l O_2	106,08 l N_2
Mit N ausgetreten	+ 0,45 l „	— 27,19 l „	
In 155 Min. geatmet	34,93 l CO_2	30,99 l O_2	R.-Q. 1,127.

Für 1 kg und 1 Min.: 7,512 ccm CO_2, 6,664 ccm O_2.

Versuch 7.

Schwein I. Gewicht 30,5 kg. 16. April 1915. Futter wie gestern in Versuch 6, aber ohne Stroh. Das Futter wird unmittelbar vor Beginn des Versuchs verabreicht und ist im Moment der Anfangsprobe schon zum größten Teil gefressen. Tier sehr unruhig während der meisten Zeit des Versuchs.

Bar. zu Anfang 9^h 30′ .	761,94 mm	Temp. in der Kammer 19,4°,
11 mm Wasserüberdruck	0,76 „	reduziertes Luftvolumen 7314,5 l.
Druck in der Kammer .	762,70 mm	
Wasserdampfspannung .	9,90 „	
Gasdruck	752,80 mm	
Am Schluß 12^h 5′ . . .	761,94 mm	Temp. in der Kammer 23,0°,
6 mm Wasserüberdruck	0,46 „	reduziertes Luftvolumen 7155,0 l.
	762,40 mm	
Wasserdampfspannung .	16,94 „	
Gasdruck	745,46 mm.	

Gasprobe zu Beginn	0,09 % CO_2	20,70 % O_2	79,21 % N_2
„ am Schluß	0,976 „ „	19,178 „ „	79,306 „ „

Gasmengen in der Kammer:

Anfangs	6,583 l CO_2	1514,01 l O_2	5793,75 l N_2
Am Schluß . . .	69,833 l „	1410,84 l „	5674,37 l „
	63,250 l CO_2	103,17 l O_2	119,38 l N_2
Mit N ausgetreten	+ 0,803 l „	— 30,44 l „	
In 155 Min. geatmet	64,053 l CO_2	72,73 l O_2	R.-Q. 0,881.

Für 1 kg und 1 Min.: 13,55 ccm CO_2, 15,38 ccm O_2.

Versuch 8.

Dasselbe Schwein. Gewicht 30,2 kg. 17. April 1915. Wegen der Störung durch Unruhe im vorigen Versuch derselbe nochmals in gleicher Weise wiederholt.

Bar. Anfang $9^h\ 18^1/_2{}'$.	761,43 ccm	Temp. in der Kammer 20,2°,
Wasserdampfspannung .	11,30 „	reduziertes Volumen 7268,7 l.
Gasdruck	750,13 ccm	
Ende $11^h\ 49^1/_4{}'$	761,43 ccm	Temp. in der Kammer 33,2°,
45 mm Wasserüberdruck	3,33 „	reduziertes Volumen 7170,7 l.
	764,76 ccm	
Wasserdampfspannung .	17,14 „	
Gasdruck	747,62 ccm.	

Gasprobe zu Beginn	0,115 % CO_2	20,537 % O_2	79,348 % N_2
„ am Schluß	1,043 „ „	19,634 „ „	79,323 „ „

Gasmengen in der Kammer:

Anfangs	8,36 l CO_2	1492,76 l O_2	5767,50 l N_2
Am Schluß	74,79 l „	1407,90 l „	5688,00 l „
	66,43 l CO_2	84,86 l O_2	79,50 l N_2
Mit 79,50 l N ausgetr.	+ 0,58 l „	— 20,12 l „	
In $150^3/_4$ Min. geatm.	67,01 l CO_2	64,74 l O_2	R.-Q. 1,035.

Für 1 kg und 1 Min.: 14,72 ccm CO_2, 14,22 l O_2.

Auch in diesem Versuch wurde der Gaswechsel durch Unruhe des Tieres stark in die Höhe getrieben.

Der auffallend hohe respiratorische Quotient in diesem Versuch und in Versuch 6 veranlaßte uns, die zur Verbrennung der Tagesnahrung nötige Sauerstoffmenge und die dabei entstehende Kohlensäure zu berechnen. Wir nehmen dabei an, daß beim Abbau im Körper

1 g Milcheiweiß	0,928 l Sauerstoff verbraucht u.	0,736 l CO_2 liefert
1 g Fett	1,989 l „ „ „	1,418 l „ „
1 g Milchzucker u. Rohrzucker	0,785 l „ „ „	0,785 l „ „

Auf Grund der Milchanalyse enthielt die Tagesnahrung

in 2 l Milch	68 g Eiweiß,	54 g Fett,	96 g Zucker
in 200 g Rohrzucker	—	—	200 g „
im ganzen	68 g Eiweiß,	54 g Fett,	296 g Zucker.

Die Deckung des Atembedürfnisses durch diese Nahrung berechnet sich wie folgt:

68 g Eiweiß verbrauchen	63,10 l O_2	und liefern	50,05 l CO_2
54 g Fett „	107,41 l „	„ „	76,57 l „
296 g Zucker „	232,36 l „	„ „	232,36 l „
Die ganze Tagesnahrung	402,87 l O_2		358,98 l CO_2

Diesem Gaswechsel entspricht der respiratorische Quotient = 0,891.

Der in Versuch 6 und 8 gefundene hohe Quotient ist also durch die Nahrung nicht erklärt; er dürfte darauf beruhen, daß bei starker Muskeltätigkeit die CO_2-Ausscheidung oft mehr wächst als der Sauerstoffverbrauch, besonders bei Tieren, die einen hohen Glykogenvorrat zur Verfügung haben. In Versuch 5 verhielt sich das Tier fast ganz ruhig, hier entspricht der R.-Q. dem aus der Nahrung berechneten, während er in Versuch 6 trotz ruhigen Verhaltens recht hoch ist.

Berechnen wir den Verbrauch in dem letzten Versuche auf das ganze Tier und 24 Stunden, so haben wir

in Versuch 6:	316,2 l Sauerstoff,	279,5 l Kohlensäure
„ „ 7:	675,7 l „	595,1 l „
„ „ 8:	618,4 l „	640,1 l „

Es ergibt sich hieraus, daß die Nahrung den Bedarf des ruhenden Tieres überreichlich deckt, während bei starker Unruhe, wie sie allerdings immer nur während einiger Tagesstunden vorkommt, der Verbrauch die Zufuhr übersteigt. Bedenken wir, daß das Tier des Nachts ruhig schläft, so deckt die Nahrung auch bei Unruhe den Bedarf. Die Zahlen lassen erkennen, daß es bei einem derart unruhigen Tiere unmöglich ist, den Einfluß des Strohes auf den Umsatz, also die durch

dasselbe bedingte mechanische Verdauungsarbeit, auch nur annähernd abzuschätzen. Wir haben deshalb die folgenden Nachtversuche, in denen das Tier fast ständig schlief, eingeleitet.

Versuch 9.

Schwein I. Gewicht 31,4 kg. Nacht 24./25. April 1915.

Das Tier hat seit dem 17. April nur morgens und abends je 1 l Vollmilch mit 100 g Zucker erhalten, dazu täglich 10 g Calciumcarbonat; am Versuchstage um $10^h 18'$ abends 1 l Milch mit 45 g Zucker.

Anfang $10^h 34'$ Bar.	755,14	
1,1 cm Wasser, Überdruck im Kasten	0,15	Temp. in der Kammer 22,48°,
	755,29	reduziertes Gasvolumen 7137,0 l.
Wasserdampfspannung . . .	13,00	
Gasdruck	742,29	
Ende $1^h 7'$ nach 153 Min. Bar.	755,64	
Überdruck im Kasten . . .	0,23	Temp. in der Kammer 23,4°,
	755,87	reduziertes Gasvolumen 7105 l.
Wasserdampfspannung . . .	14,60	
	741,27	

Gasprobe zu Beginn	0,24 % CO_2	20,54 % O_2	79,22 % N_2
„ nach 153 Minuten .	0,752 % „	19,99 % „	79,258 % „

Gasmenge in der Kammer:

Anfangs	17,13 l CO_2	1465,97 l O_2	5653,9 l N_2
Nach 153 Min. . .	53,43 l „	1420,27 l „	5631,1 l „
	36,30 l CO_2	45,70 l O_2	22,8 l N_2
Mit 22,8 l N_2 ausgetreten . . .	0,14 l „	5,82 l „	
In 153 Min. geatmet	36,44 l CO_2	39,88 l O_2	R.-Q. 0,914

Pro Minute . . . 238,17 ccm CO_2 260,65 ccm O_2

Pro 1 kg und 1 Min.: 7,585 ccm CO_2, 8,300 ccm O_2.

Der Versuch wurde fortgesetzt und um $2^h 56'$ beendet.

$2^h 56'$ Bar.	756,1	Temp. im Kasten 23,60°,
Wasserdampfspannung . . .	15,9	reduziertes Gasvolumen 7092 l.
Gasdruck	740,2	

Gasprobe $2^h 56$ . . . 1,035 % CO_2 19,715 % O_2 79,25 % N_2

Anfangsgas . . .	53,43 l CO_2	1420,27 l O_2	5631,14 l N_2
Endgas	73,40 l "	1398,20 l "	5620,43 l "
	19,97 l CO_2	22,07 l O_2	10,71 l N_2
Mit 10,71 l N_2 ausgetreten . . .	0,12 l "	2,68 l "	
In 109 Min. geatmet	20,09 l CO_2	19,39 l O_2	

Für 1 kg und 1 Min.: 6,398 ccm CO_2, 6,175 ccm O_2.
R.-Q. 1,036.

Versuch 10.

Schwein I. Gewicht 31,7 kg. Nacht vom 3. zum 4. Mai 1915.

Nachtversuch, parallel zu dem vorigen mit feingemahlenem Stroh.

Tier hat seit mehreren Tagen regelmäßig neben 2 l Vollmilch und 200 g Zucker sowie 10 g Calciumcarbonat 1200 g Strohmehl gefressen.

Am 3. Mai um 9^h vorgelegt: 1 l Vollmilch, 100 g Zucker, 400 g Strohmehl; Mittag 1^h: 200 g Strohmehl, 50 g Zucker. Das Tier, das sich schon im ventilierten Respirationskasten befand, war bis gegen Abend sehr unruhig. Abends 9^h 37′ erhielt es 1 l Milch, 100 g Zucker, 400 g Strohmehl; begann sofort gierig zu fressen, der Apparat wurde sofort geschlossen und 9^h $38^1/_2$′ die Anfangsprobe genommen. Das Tier fraß ständig und ruhig 23 Minuten lang. In der übrigen Zeit bis zur ersten Probenahme wurden während 12 Minuten Bewegungen registriert, sonst lag das Tier ruhig. In der zweiten Versuchsperiode Schlaf und absolute Ruhe.

Anfang 9^h $38^1/_2$′ Bar.	765,14	
20 mm Wasserdruck	1,47	
	766,61	Temp. im Kasten 24,2°,
Dampfspannung	10,61	reduziertes Gasvolumen 7226,7 l.
Gasdruck	756,00	

Gasprobe zu Beginn . . .	0,143 % CO_2	20,822 % O_2	79,035 % N_2
" 12^h $38^1/_2$′ . . .	0,790 % "	20,100 % "	79,110 % "

12^h $38^1/_2$′ Bar.	765,30	
10 mm Wasserdruck	0,74	
	764,56	Temp. im Kasten 22,4°,
Dampfspannung	13,94	reduziertes Gasvolumen 7219,0 l.
	750,62	

Gasmenge in der Kammer:

Anfangs	10,33 l CO_2	1504,73 l O_2	5711,62 l N_2
Nach 180 Minuten	57,03 l "	1451,03 l "	5711,00 l "
Mit 0,62 l N_2 ausgetreten . . .	46,70	53,70	0,62
	—	0,15 l O_2	—
In 180 Min. geatmet	46,70 l CO_2	53,55 l O_2	R.-Q. 0,872

Pro Minute geatmet 259,40 ccm CO_2 297,50 ccm O_2

Pro 1 kg und 1 Min.: 8,18 ccm CO_2, 9,38 ccm O_2.

2. Versuchsperiode,

Schluß 2h 38 1/2′ Bar. . .	765,52	
— 22 mm Wasserdruck . . .	1,62	Temp. im Kasten 21,3°,
	763,90	reduziertes Gasvolumen 7243,9 l.
Dampfspannung	13,50	
Gasdruck	750,40	

In der Kammer 12h 38 1/2′ . . .	57,03 l CO_2	1451,03 l O_2	5711,00 l N_2
In der Kammer 2h 38 1/2′ . . .	84,39 l "	1429,58 l "	5730,00 l "
	27,36 l CO_2	21,45 l O_2	19,00 l "
Mit 19,00 l N_2 eingetreten . . .	0,01 l "	5,03 l "	
In 120 Min. geatmet	27,35 l CO_2	26,48 l O_2	R.-Q. 1,033
Pro Minute "	227,90 ccm CO_2	220,70 ccm O_2	

Pro 1 kg und 1 Min.: 7,19 ccm CO_2, 6,96 ccm O_2.

Aus den Protokollen der vorstehenden Versuche entnehmen wir, daß der Einfluß der wechselnden Muskeltätigkeit der Tiere auf den Gaswechsel sehr viel größer war als derjenige der verschiedenen Fütterungsweise. Infolgedessen bedürfen die Schlußfolgerungen, die wir vorläufig in den Mitteilungen der Deutschen Landw. Ges. 1915 über die Verdauungsarbeit nach Strohfütterung aus den obigen Versuchen 1 bis 4 abgeleitet haben, einer kritischen Nachprüfung. Als Grundlage derselben stellen wir unsere Versuchsergebnisse in folgender Tabelle zusammen. Der Calorienverbrauch ist nach den von Schumburg und Zuntz[1]) entwickelten Prinzipien aus dem Gaswechsel berechnet[2]).

[1]) Schumburg und Zuntz, Physiologie des Marsches, S. 259.

[2]) Vgl. auch Zuntz-Loewy, Lehrbuch der Physiologie, 2. Aufl., S. 645.

Tabelle.

Nr.		Gewicht des Tieres kg	Pro 1 kg u. 1 Min.		R.-Q.	Calorien pro kg u. 24 Std.
	Schwein I		ccm CO_2	ccm O_2		
1	Ohne Strohmehl	17,25	9,89	11,62	0,851	82,35
2	Mit 400 g Strohmehl . . .	20,20	10,27	10,93	0,939	78,73
	Schwein II					
3	Mit 400 g Strohmehl . . .	21,40	6,85	8,55	0,801	60,02
4	Ohne Strohmehl	20,50	7,30	9,36	0,775	65,39
5	9 Std. nach 400 g Strohmehl	22,50	7,65	8,53	0,897	60,97
	Schwein I					
6	Mit 400 g Strohmehl während des Fressens	30,00	7,51	6,66	1,127	49,63
7	Ohne Stroh, sehr unruhig .	30,50	13,55	15,38	0,881	109,60
8	Wie Nr. 7	30,20	14,72	14,22	1,035	104,23
9	Nacht ohne Strohmehl, 153 Min.	31,40	7,58	8,30	0,914	59,50
	2. Hälfte, 109 Min. . .	—	6,40	6,17	1,036	45,24
10	Nacht mit 400 g Strohmehl, 180 Min.	31,70	8,18	9,38	0,872	66,73
	2. Hälfte, 120 Min. . .	—	7,19	6,96	1,033	51,00

Wenn wir nur die Nachtversuche Nr. 9 und 10 betrachten, in denen die Bewegungen des Tieres nur gering waren, so ergibt sich, daß die Wärmeproduktion in den 3 ersten Stunden nach Strohfütterung um 7,23 Cal pro Kilogramm und 24 Stunden erhöht war, in den folgenden 2 Stunden um 5,76 Cal. Da die zwei Versuche der Strohperiode $180 + 120 = 300$ Min., die der strohlosen Fütterung nur $153 + 109 = 262$ Min. umfassen, müssen wir annehmen, daß die hier gefundene Steigerung um im Mittel $\frac{7,23 + 5,76}{2} = 6,50$ Cal auch in den an $^1/_4$ Tag fehlenden 180 Minuten noch bestanden hatte. Das heißt also, daß bei 3maliger Verabreichung von je 400 g Stroh die Wärmeproduktion des 31,5 kg wiegenden Tieres um $31,5 \times 6,50 = 204,7$ Cal pro Tag gesteigert war. Je 100 g Stroh erhöhen also die Wärmeproduktion um **17,06** Cal.

Diese Zahl übertrifft die Schätzung von 11 Cal pro 100 g Strohmehl, die wir aus den ersten 4 Respirationsversuchen in unserer vorläufigen Mitteilung abgeleitet hatten, erheblich, sie läßt sich aber durch Berücksichtigung der registrierten Be-

wegungen noch etwas genauer prüfen. — Die Art der Kontrolle der Bewegungen wurde schon S. 423 beschrieben. Die Gestalt der bei Bewegungen des Tieres geschriebenen Kurven zeigen Fig. 1 bei starker und Fig. 2 bei geringer Unruhe. Die obere Linie markiert die Minuten.

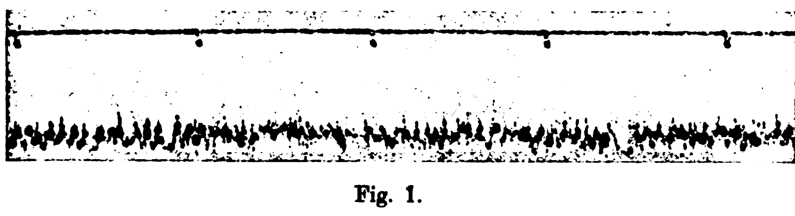


Fig. 1.

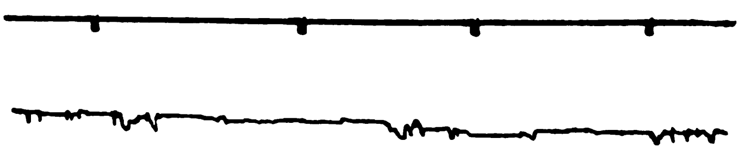


Fig. 2.

Bei Auswertung der Kurven verfuhren wir so, daß wir 1 Minute, in der zahlreiche und hohe Exkursionen verzeichnet wurden, als volle Unruheminute in Rechnung stellten; diejenigen Zeiten, in denen seltenere und weniger starke Exkursionen registriert wurden, mit einem entsprechenden Bruchteil einer Unruheminute einstellten. So wurde für jeden Versuch die Zahl der Unruheminuten berechnet.

Um den Wert einer Unruheminute zu finden, vergleichen wir den Versuch 8, in dem das Tier sehr unruhig war, mit Versuch 9 bei sehr wenig Bewegungen. Das Futter war in beiden Versuchen fast gleich, nur wurden in Versuch 9 statt 45 g 100 g Zucker gegeben, was den Stoffwechsel nach anderen Erfahrungen im ganzen um etwa 13 Cal erhöhen dürfte, also pro 1 kg um 0,43 Cal. Wir setzen also den Verbrauch in der ersten Hälfte von Versuch 9 mit 59,07 Cal, bezogen auf 1 kg und 24 Stunden, ein, in Nr. 8 mit 104,23 Cal. In Nr. 8 waren von $150\,^3/_4$ Versuchsminuten 94 Unruheminuten; in Nr. 9 I von 153 nur 3,5 Unruheminuten. Bezeichnen wir nun den Ruheverbrauch pro 1 kg und 1 Minute mit y, den Mehrverbrauch für 1 Arbeitsminute und 1 kg mit x, so ergeben sich folgende zwei Gleichungen:

$$y + \frac{94}{150,75}\,x = \frac{104,23}{\cdot 1440}$$

$$y + \frac{3,5}{153}\,x = \frac{59,07}{1440}$$

$$0,60067\,x = \frac{45,16}{1440}$$

$$x = 0,0522 \text{ Cal}$$

als Steigerung der Wärmeproduktion einer Unruheminute. Diese Zahl findet eine gewisse Stütze in der Tatsache, daß der Mensch bei strammem Marschieren seine Wärmeproduktion pro Kilogramm und Minute um 0,047 Cal erhöht[1]).

Zur Korrektur der beiden Nachtversuche haben wir

bei Nr. 9 I $3^1/_2$ Unruheminuten = 0,1827 Cal auf 153 Minuten einzusetzen, das sind auf 1440 Minuten = 1,719 Cal;

bei Nr. 9 II 9 Unruheminuten = 0,470 Cal auf 109 Minuten, 4,423 Cal auf 1440 Minuten;

bei Nr. 10 I 14,5 Unruheminuten = 0,757 Cal auf 180 Versuchsminuten = 6,056 Cal auf 1440 Arbeitsminuten;

bei Nr. 10 II vollkommen horizontale Kurve; das Tier schlief beständig, also kein Abzug.

Die Steigerung des Stoffwechsels durch Strohmehl berechnet sich demnach:

1. Versuchszeit mit Strohmehl . . .	66,73 — 6,06 =	60,67 Cal
1. " ohne " . . .	59,50 — 1,72 =	57,78 "
Steigerung durch Strohmehl . .		2,89 Cal.
2. Versuchszeit mit Strohmehl . . .		51,00 "
2. " ohne " . . .	45,24 — 4,42 =	40,82 "
Steigerung durch Strohmehl . .		10,18 Cal.

Auffallend ist, daß hier, nach Ausschaltung aller Muskelbewegungen, die steigernde Wirkung des Strohmehls in der 2. Verdauungsperiode viel größer ist als in der ersten. Wir dürfen also mit ihr auch in der 3. Verdauungsperiode, d. h. in den 180 Minuten bis zur neuen Fütterung, rechnen. Es ist sogar wahrscheinlich, daß die Differenz in dieser letzten Periode noch größer wäre, und zwar deshalb, weil nach allen unseren

[1]) Vgl. Zuntz und Schumburg, Studien zur Physiologie des Marsches, S. 264.

Erfahrungen die steigernde Wirkung von Milch und Zucker auf den Stoffwechsel nach 5 Stunden abgeklungen ist, während die des Strohmehls sicher noch andauert. Wir schätzen also die Wirkung des Strohmehls mit $\frac{13,07}{2} = 6,53$ Cal pro Kilogramm $= 204,75$ Cal, entsprechend 31,5 kg Lebendgewicht, eher zu niedrig.

Erfreulich ist die Übereinstimmung dieser exakten Berechnung mit der oben gegebenen unkorrigierten Zahl (204,7 Cal).

Im Mittel beider Zahlen kommen auf 100 kg Strohmehl $\frac{204,73}{12} = 17,06$ Cal als Ausdruck der Verdauungsarbeit.

Wir hatten (S. 397) gesehen, daß aus 100 g feinstgemahlenen Strohes im ganzen 61,42 Cal resorbiert wurden. Die Verdauungsarbeit beansprucht also 27,8 % der resorbierten Nährwerte. In früheren Untersuchungen am Pferde hatten Zuntz und Hagemann gefunden, daß dieses Tier für 100 g Rohfaser im Futter 2,086 Cal Verdauungsarbeit aufwendet, wenn man von der Kauarbeit, die hier durch das feine Mahlen unnötig geworden ist, absieht. Da unser Strohmehl 27,30 % Rohfaser enthielt, kommen auf 1 g Rohfaser $\frac{17,06}{27,30} = 0,603$ Cal. Ob dieser sehr viel kleinere Wert Folge des feinen Mahlens ist, oder ob das Schwein die Rohfaser überhaupt unter geringerem Arbeitsaufwand bewältigt als das Pferd, müssen spätere Versuche zeigen.

Wenn wir schließlich den Nutzwert des feingemahlenen Strohes in Kellnerschen Stärkewerten ausdrücken wollen, brauchen wir die Calorien nur durch 4,19 zu dividieren, also $\frac{61,42 - 17,06}{4,19} = 10,59$ kg Stärkewert des feinstgemahlenen Strohes beim Schwein gegenüber 17,0 kg Stärkewert des gehäckselten Haferstrohes beim Rinde nach Kellner.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Für die Ermittelung des Nährwertes von Futterstoffen gibt die direkte Calorimetrie von Futter, Kot und Harn meist niedrigere und stets viel zuverlässigere Werte als die übliche Futtermittelanalyse. Die

Differenzen zeigt folgende auf 100 g Stroh berechnete Zusammenstellung:

			Calorien, aus d. resorbierten Nährstoffen berechnet	Calorien direkt gefunden	Physiologischer Nutzwert
Versuch	1 1.	Grob gemahlenes Stroh	40,59	25,13	22,06
„	2 1.	Fein gemahlenes Stroh	61,42	55,34	49,55
„	2 2.	Strohstaub . . .	58,72	48,93	—
„	1 2.	Stroh wie 1 1, 1 Tag vergoren . .	16,67	— 2,36	— 6,12
„	1 3.	Dasselbe Stroh, 3 Tage vergor.	96,08	76,61	65,97
„	2 3.	Stroh m. Getreidemehl	125,50	—	—[1])
„	2 4.	Stroh m. Getreidemehl vergoren	169,30	—	—[2])
„	2 5.	Mäßig fein. Strohmehl vergoren	52,7	59,00	53,60

Die letzte Kolonne zeigt, daß auch die Energieverluste durch den Harn bei Strohfutter sehr gesteigert sind.

2. Die Verluste an Energie bei Strohfutter durch gesteigerte Verdauungsarbeit sind zwar recht erhebliche, erreichen aber lange nicht die früher bei Pferden gefundenen Werte. Das Schwein braucht zur Bewältigung von 100 g Strohmehl wenigstens 17,1 Cal, das sind 0,6 Cal auf 1 g Rohfaser im Futter. Das Pferd braucht, abgesehen von der Kauarbeit, die beim Strohmehl wegfällt, 2,09 Cal auf 1 g Rohfaser.

Wie weit sich die Verdauungsarbeit durch Mahlen des Strohs beim Pferde vermindern läßt, muß noch untersucht werden.

3. Die beschriebene Technik der Respirationsversuche ist geeignet, diesen wichtigen Teil der Stoff-

---

[1]) Auf 100 g Stroh werden 5,2 Cal durch den Harn ausgeschieden.

[2]) Auf 100 g Stroh werden 4,80 Cal durch den Harn ausgeschieden.

wechseluntersuchung viel häufiger als bisher anzuwenden.

4. Die Versuche zeigen, daß man den Körperbewegungen der Versuchstiere mehr Rechnung tragen muß, als dies, abgesehen von den Arbeiten Benedicts, bisher meist geschehen ist, und weisen auch einen bequemen Weg hierfür nach.

5. Durch geeignete Gärung mit Darmbakterien läßt sich der Nährwert der an Rohfaser reichen Futtermittel für Schweine erheblich steigern.

Autorenverzeichnis.

Boas, I. Blutnachweis in Mageninhalt, Faeces und Urin. S. 105.

Brahm, C., R. von der Heide, Marie Steuber, und N. Zuntz. Untersuchungen über den Einfluß mechanischer und chemischer Einwirkungen auf den Nährwert von Futterstoffen. S. 389.

Brahm, C., siehe Loewy.

Brahn, B., und Hirschfeld, H. Über den Katalasegehalt des Blutes bei den sogenannten Pseudoanämien. S. 202.

Ehrlich, Felix. Über die Vegetation von Hefen und Schimmelpilzen auf heterocyklischen Stickstoffverbindungen und Alkaloiden. S. 152.

— Über den Nachweis von Tyrosol und Tryptophol in verschiedenen Gärprodukten. S. 232.

Färber, Eduard, siehe Neuberg.

Feigl, Joh., und H. Luce. Neue Untersuchungen über akute gelbe Leberatrophie. I. Über den Reststickstoff des Blutes und seine Komponenten. Weitere Beiträge zur vergleichenden Pathologie des Aminosäurespiegels im Blute. S. 162.

— — Neue Untersuchungen über akute gelbe Leberatrophie. II. Harnanalyse und Bilanzversuche. S. 207.

Friedberger, E., und G. Joachimoglu. Über die Abhängigkeit der keimtötenden und entwicklungshemmenden Wirkung von der Valenz. S. 135.

Fuld, E. Über Blutnachweis, insbesondere mittels Malachitgrüns, und eine neue Probe mit Rhodamin. S. 241.

Heide, R. von der. Analyse der Haferpflanze, insbesondere der Strohteile. S. 331.

— siehe Brahm.

Hirschfeld, H., siehe Brahn.

Jacoby, Martin. Über Fermentbildung. S. 35.

Joachimoglu, G., siehe Friedberger.

Loewy, A., und C. Brahm. Säurevergiftung und Luftverdünnung. S. 224.

Luce, H., siehe Feigl.

Michaelis, Leonor. Die Methode der elektrometrischen Titration und ihre Anwendung auf den Magensaft. S. 1.

Morgenroth, J. und J. Tugendreich. Über die spezifische Desinfektionswirkung der Chinaalkaloide. S. 257.

Neuberg, Carl, und Eduard Färber. Über die Wirkungsweise der Carboxylase. S. 376.

— und Schwenk, Erwin. Über Indoxylglucuronsäure. S. 382.

Oppenheimer, Carl. Über die Zulässigkeit der Calorie als physiologische Maßeinheit. S. 302.

Salkowski, E. Zur Kenntnis der Bindungen des Schwefels im Harn. S. 68.

— Zur Kenntnis des Anästhesins und der Isäthionyl-p-aminobenzoesäure. S. 81.

— Über essigsaures Wismut. S. 96.

Schwenk, Erwin siehe Neuberg.

Steuber, Marie, siehe Brahm.

Strauß, H. Angeborenes Fehlen beider Nebennieren und Morbus Addisoni mit kritischen Betrachtungen zur Biochemie des Adrenalsystems. S. 51.

Tugendreich, J., siehe Morgenroth.

Unna, P. G. Die Rolle des Sauerstoffs bei chemischen Einwirkungen auf das tierische Gewebe. S. 355.

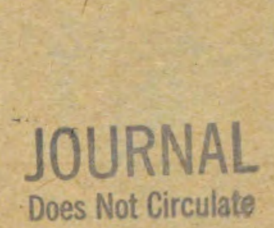
Wacker, Leonhard. Die Kohlensäureabgabe des absterbenden Muskels als Ursache der Lösung der Totenstarre. S. 118.

Wohlgemuth, J. Über die Zusammensetzung des Blutes und über das Verhalten des Blutdruckes im Wüstenklima. S. 290.

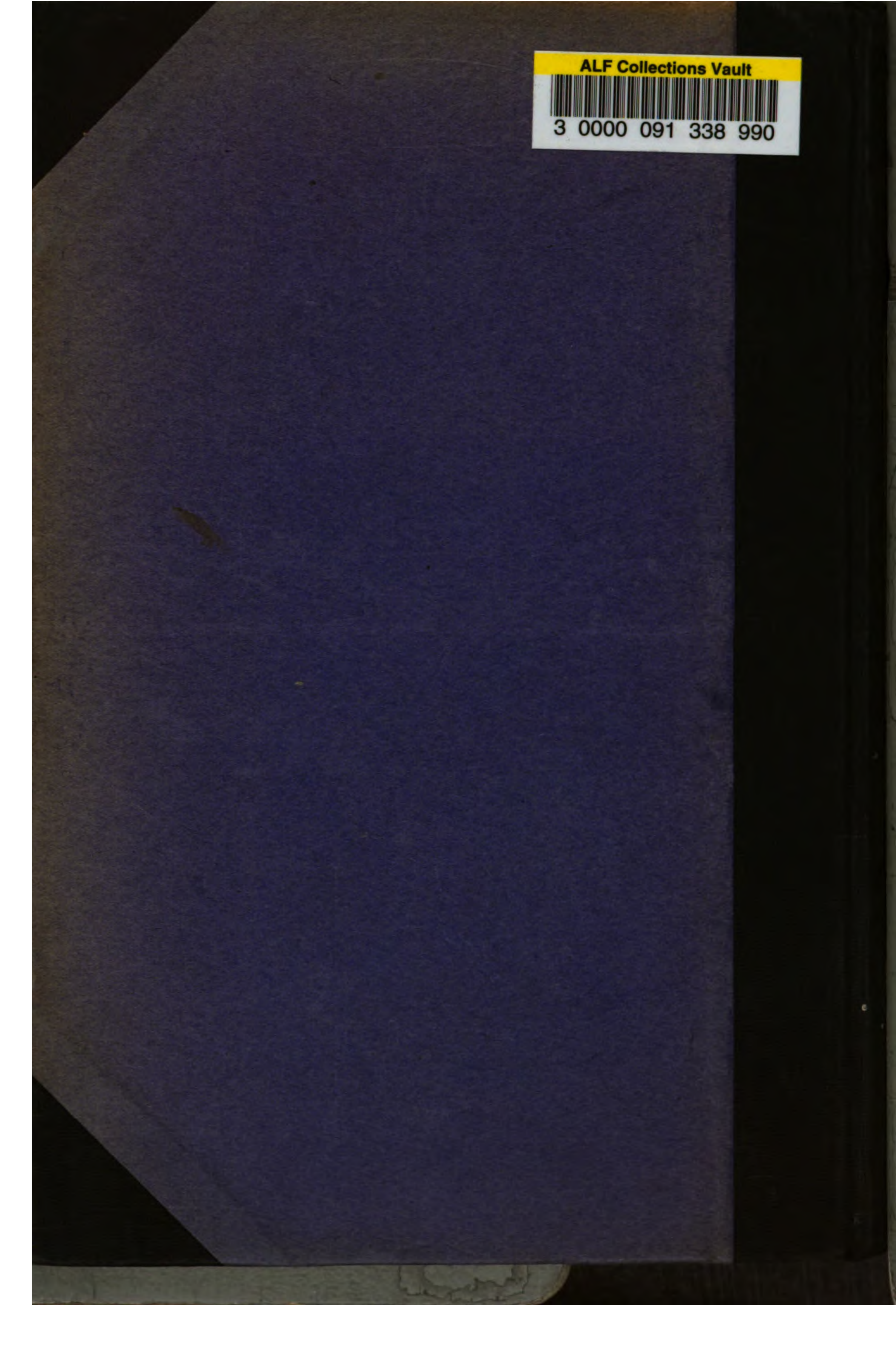
Zuntz, N., siehe Brahm.




CHEMISTRY LIBR
3 2000 013 063 693


JOURNAL
Does Not Circulate




ALF Collections Vault
3 0000 091 338 990